

**UNIVERSIDAD DE CUENCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**



**“DETERMINACIÓN DE INMUNOGLOBULINA A EN LECHE  
MATERNA EN LOS QUINCE DÍAS POSPARTO”**

Tesis previa a la obtención del  
Título de Bioquímica Farmacéutica

**AUTORAS:**

ZARITA NIETO ABAD.

SOFÍA PADRÓN QUESADA.

**DIRECTORA:**

DRA. DIANA ASTUDILLO NEIRA, MST.

**Cuenca - Ecuador**  
**2013**



## DEDICATORIA

A DIOS quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. Por permitirme culminar con éxito el esfuerzo de todos estos años de estudio. Para él mi agradecimiento infinito.

A MIS HIJAS: Zarita Gabriela y Rebeca Alejandra. Por ser lo más grande y valioso que Dios me ha regalado, quienes son mi fuente de inspiración y la razón que me impulsa a salir adelante.

A MIS PADRES: Carlos y Ana. Por ser el pilar fundamental en mi vida, por todo su esfuerzo y sacrificio, lo que hizo posible el triunfo profesional alcanzado. Para ellos mi amor, obediencia y respeto.

A mis amigas, amigos y familiares que siempre me motivaron a seguir adelante sin importar los obstáculos que se presenten a lo largo de mi camino.

*Zarita.*

Este trabajo realizado con mucho esfuerzo se lo dedico a DIOS, gran amigo incondicional que me acompaña paso a paso iluminando mi camino y dándome fortaleza para no dejarme vencer.

A mis Padres MARCELO y CARMEN, por darme la vida e inculcarme valores para vivirla.

A mis Hermanos CRISTIAN y FRANTZ, por su apoyo y consejos.

A mi Novio JUAN CARLOS, por su amor, comprensión y respaldo en todo momento.

A mis familiares, amigas y amigos, que de una u otra manera formaron parte en la culminación de este anhelo. Especialmente a quien con su gran amor, cariño, siempre me ha apoyado, aconsejado, consolado y valorado, sencillamente por ser mi ángel de la guarda, gracias Mami LAURA.

*Sofía.*



## AGRADECIMIENTO

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas, acompañando en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad. Por ello es muy grato para nosotras utilizar este espacio y expresarles nuestro agradecimiento.

Agradecemos a la UNIVERSIDAD DE CUENCA por darnos la oportunidad de estudiar y ser profesionales.

A nuestra directora de tesis, DRA. DIANA ASTUDILLO NEIRA, MST., por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, paciencia y motivación ha sido guía en la culminación de nuestros estudios con éxito.

Son muchas las personas que han formado parte de nuestra vida profesional a las que nos encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles. Algunas están aquí con nosotras y otras en nuestros recuerdos y en nuestro corazón, sin importar en donde estén queremos darles las gracias por formar parte de nosotras, por el apoyo brindado y por todas sus bendiciones.

Principalmente a nuestros Padres por la confianza y el apoyo tanto moral y económico brindado para poder culminar nuestros estudios y ser profesionales.

Debemos agradecer de manera especial al Dr. Marcelo Aguilar, Director de la Fundación Pablo Jaramillo Crespo por permitirnos llevar a cabo esta investigación en dicha Casa de Salud; además al personal y pacientes que colaboraron de manera desinteresada con la investigación.

De igual manera agradecemos al personal del Laboratorio de Análisis Clínico de la Universidad de Cuenca, por facilitarnos el uso de sus instalaciones y por su colaboración durante el desarrollo de este trabajo.

LAS AUTORAS

---

ZARITA NIETO ABAD  
SOFÍA PADRÓN QUESADA



## RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de cuantificar la concentración de inmunoglobulina A en leche materna durante los quince días posparto, abarcando así las tres fases de lactancia: calostro, transición y madura. El diseño de investigación fue no experimental, descriptivo de corte transversal; en un total de 5 madres voluntarias con parto a término y en periodo de lactancia que ingresaron con diagnóstico de labor de parto y con un embarazo mayor de 38 semanas a la Fundación Humanitaria “Pablo Jaramillo Crespo”.

Las muestras de leche materna fueron recolectadas durante puerperio inmediato (24 horas) hasta puerperio mediato (2 semanas). Se procesaron setenta y cinco muestras por duplicado; determinándose la concentración de IgA secretora mediante la técnica de Inmunodifusión radial (IDR).

Se comprobó que la IgA presenta su máxima concentración el primer día del postparto (407,47 mg/dL), si comparamos con el décimo quinto día, donde el volumen de leche es mayor pero posee menor concentración de IgA (55,93 mg/dL); demostrándose la validez de los datos obtenidos mediante un diagrama de cajas. Además se realizó un análisis estadístico ANOVA para las variables de la paridad y el tipo de parto, los resultados arrojados indican que ninguna de las dos variables influyen en la concentración de la IgA durante los 15 días postparto; paridad ( $p=0.432$ ), y tipo de parto ( $p=0.842$ ).

**Palabras clave:** inmunoglobulina A secretora, leche materna humana, paridad.



## ABSTRACT

The present study has been done in order to quantify the concentration of immunoglobulin A in breast milk during the fifteen days postpartum, consequently covering the three phases of lactation: colostrum, transitional and mature. The research design was non-experimental, cross sectional descriptive, in a total of 5 volunteer mothers who delivered at term and nursing diagnosis admitted with labor and pregnancy over 38 weeks at the Hospital Fundación Humanitaria "Pablo Jaramillo Crespo".

Breast milk samples were collected during postpartum period (24 hours) until two postpartum weeks later. We processed seventy five duplicate samples; determining secretory IgA concentrations using the technique of radial immunodiffusion (RID).

It was found that IgA concentration has its maximum concentration on the first day postpartum (407.47 mg / dL), if compared to the fifteenth day, where the volume of milk is higher but has lower concentration of IgA (55.93 mg / dL), showing the validity of the data obtained by a box diagram. We also carried out a statistical analysis ANOVA for the variables of parity and type of delivery, the results obtained indicate that neither variables influence the IgA concentration during the 15 days postpartum, parity ( $p=0.432$ ), and mode of delivery ( $p=0.842$ ).

**Keywords:** secretory immunoglobulin, breast milk, parity.



## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	15
1. MARCO TEÓRICO .....	16
1.1 LECHE MATERNA.....	16
1.2 PRODUCCIÓN DE LA LECHE HUMANA .....	16
1.3 COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES DE LA LECHE MATERNA .....	18
1.3.1 Composición de la leche materna .....	18
1.4 TIPOS DE LECHE .....	21
1.4.1 Calostro (primera leche). ....	21
1.4.1.1 Propiedades nutricionales del calostro. ....	22
1.4.2 Leche de Transición. ....	23
1.4.3 Leche Madura.....	24
1.5 PROPIEDAD ANTIALÉRGICA DE LA LECHE MATERNA.....	25
1.6 IMPORTANCIA NUTRICIONAL .....	25
1.7 COMPONENTES CELULARES .....	25
1.8 APORTE INMUNOLÓGICO .....	26
1.9 INMUNOGLOBULINA A.....	26
1.9.1 Estructura, síntesis y funciones.....	28
1.9.2 Papel biológico de la IgA de las secreciones: .....	29
1.10 VENTAJAS DE LA LACTANCIA MATERNA .....	29
2. MATERIALES Y MÉTODO .....	32
2.1 UNIVERSO DE ESTUDIO .....	32
2.2 MUESTRA .....	32
2.3 VARIABLES.....	33
2.4 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN Y LA MUESTRA DE ESTUDIO .....	33
2.4.1 Procesamiento de la Muestra .....	34
2.4.1.3 Muestra de análisis.....	35
2.4.1.4 Cálculo de concentración.....	35
2.4.2 Curva de calibración. ....	36

\_Toc357102830



2.5 MANEJO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS .....	38
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	41
3.1 RESULTADOS OBTENIDOS .....	41
3.2.1 CONCENTRACIÓN DE IgA DURANTE LOS 15 DÍAS POSTPARTO. ....	41
3.2.2 CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE LA IgA SEGÚN LAS ETAPAS DE LA LECHE MATERNA. ....	46
3.2.2.1 Análisis de varianza entre etapas de lactancia. ....	48
3.2.3 CONCENTRACIÓN DE IgA SEGÚN LA PARIDAD .....	52
3.2.4 CONCENTRACIÓN DE IgA SEGÚN TIPO DE PARTO .....	55
4. CONCLUSIONES.....	59
5. RECOMENDACIONES.....	60
6. BIBLIOGRAFÍA.....	61
7. ANEXOS .....	65



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1, Valores de calibración para concentración de IgA.....	36
Tabla 2, Concentración de la IgA por día y por madre.....	41
Tabla 3, Concentración promedio de IgA por día en leche.....	43
Tabla 4, Valores estadísticos de concentración IgA para diagrama de caja.....	72
Tabla 5, Concentración promedio de IgA entre cada etapa postparto.....	47
Tabla 6, Análisis de varianza entre calostro y leche de transición.....	49
Tabla 7, Análisis de varianza entre leche de transición y madura.....	50
Tabla 8, Análisis de varianza entre calostro y leche madura.....	51
Tabla 9, Concentraciones promedio de IgA según la paridad de la madre.....	52
Tabla 10, Análisis varianza de concentración promedio de IgA según la paridad.....	54
Tabla 11, Concentraciones promedio de IgA según el tipo de parto.....	57
Tabla 12, Análisis varianza de concentración promedio de IgA por tipo de parto.....	58





## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1. Curva de calibración para concentración de IgA.....	37
Grafico 2. Concentración de la IgA por día y por madre.....	42
Grafico 3. Concentración promedio de IgA por día en leche.....	44
Grafico 4. Diagrama de caja de concentración de IgA.....	45
Grafico 5. Concentración de la IgA por paridad de la madre.....	53
Grafico 6, Concentración de la IgA según el tipo de parto.....	55
Grafico 7. Concentración de IgA en Madre I.....	69
Grafico 8. Concentración de IgA en Madre II.....	69
Grafico 9. Concentración de IgA en Madre III.....	70
Grafico 10. Concentración de IgA en Madre IV.....	70
Grafico 11. Concentración de IgA en Madre V.....	71



## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1. Consentimiento informado para pacientes voluntarias .....	65
Anexo N° 2. Formulario de registro para la recolección de los datos de las pacientes voluntarias.....	66
Anexo N° 3. Datos obtenidos por los formularios de registro de las pacientes voluntarias.....	67
Anexo 4. Lecturas de los halos obtenidos de la muestra de estudio, mediante técnica de inmunodifusión radial.....	68
Anexo 5. Gráficos de la concentración de IgA por Madre.....	69
Anexo 6, Valores estadísticos de concentración IgA para diagrama de caja.....	72
Anexo 7. GLOSARIO.....	73
Anexo 8, Ficha técnica de inmunodifusión radial (IDR) - Biocientífica SA.....	74



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Zarita Nieto Abad, autor de la tesis "DETERMINACION DE INMUNOGLOBULINA A EN LECHE MATERNA EN LOS QUINCE DIAS POSPARTO", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 27 de mayo del 2013.

Zarita Nieto Abad.

0302280649

---

*Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999*

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail [cdjbv@ucuenca.edu.ec](mailto:cdjbv@ucuenca.edu.ec) casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Sofía Elisabeth Padrón Quesada, autor de la tesis "DETERMINACIÓN DE INMUNOGLOBULINA A EN LECHE MATERNA EN LOS QUINCE DÍAS POSPARTO", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 27 de Mayo de 2013



Sofía Elisabeth Padrón Quesada  
010443645-6

---

*Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999*

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail [cdjbv@ucuenca.edu.ec](mailto:cdjbv@ucuenca.edu.ec) casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Zarita Nieto Abad, autora de la tesis "DETERMINACION DE INMNOGLOBULINA A EN LECHE MATERNA EN LOS QUINCE DIAS POSPARTO", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímica Farmacéutica. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 27 de mayo del 2013.

Zarita Nieto Abad.]0302280649

---

*Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999*

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Sofía Elisabeth Padrón Quesada, autor de la tesis "DETERMINACIÓN DE INMUNOGLOBULINA A EN LECHE MATERNA EN LOS QUINCE DÍAS POSPARTO", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímica Farmacéutica. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 27 de Mayo de 2013

  
Sofía Elisabeth Padrón Quesada  
010443645-6

---

*Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999*

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail [cdjbv@ucuenca.edu.ec](mailto:cdjbv@ucuenca.edu.ec) casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



## INTRODUCCIÓN

La leche materna es la base de una buena nutrición para los bebés, ya que contiene cantidades apropiadas de proteínas, carbohidratos, grasas; además de valiosos anticuerpos que ayudan al infante a combatir infecciones. Lo que conlleva a reducir la mortalidad neonatal, mejorar la prevención de las enfermedades y asegurar una adecuada nutrición. La lactancia materna compensa la relativa inmadurez de los mecanismos de defensa en el recién nacido, proporcionando cantidades considerables de IgA secretora (1) (22).

En el calostro la concentración de IgA, está muy elevada, pero ésta va declinando conforme aumenta la producción de leche; la IgA es la inmunoglobulina más importante en la inmunidad de mucosas y la principal en la lactancia materna, ésta cubre el revestimiento interior inmaduro del tracto digestivo previniendo la adherencia de bacterias, virus, parásitos y otros patógenos (2) (16).

Considerando la importancia de la inmunidad brindada a los neonatos a través de la lactancia materna; se realizó este estudio con el objetivo de cuantificar la concentración de inmunoglobulina A en leche materna durante los quince días posparto, abarcando así las tres fases de lactancia: calostro, transición y madura; en mujeres gestantes, con un embarazo mayor de 38 semanas y en periodo de lactancia que ingresaron con diagnóstico de labor de parto a la Fundación Humanitaria "Pablo Jaramillo Crespo" de la ciudad de Cuenca.

No obstante, debe señalarse que existen algunos factores que podrían afectar la estimación de la concentración de IgA en la leche materna, citando entre ellos la paridad, el tipo de parto, estado de salud y alimentación de la madre.



## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 LECHE MATERNA

La leche humana es una mezcla homogénea que se estructura en tres fases: la fase emulsión –glóbulos de grasa-, la fracción suspensión –micelas de caseína-, y la fracción solución –constituyentes hidrosolubles; ésta es el mejor alimento que una madre puede ofrecer a su hijo tanto para su desarrollo físico como para el psicológico y afectivo (4) (24).

La leche materna varía de composición de acuerdo a la hora del día y el momento de la toma, y tiene relación con la nutrición de la madre. La leche que el neonato succiona los primeros minutos de lactancia no tiene la misma composición que la leche del final de la toma, que contiene más grasas. La leche humana cubre todos los requerimientos nutricionales del neonato y además posee otras propiedades: es de fácil digestión para el neonato y contiene inmunoglobulinas que le ayudan en los mecanismos inmunitarios, en especial la IgA que le protege la mucosa intestinal frente a las bacterias patógenas y los enterovirus. (19) (24).

Se le denomina alimentación natural, porque es la que la naturaleza ofrece al niño: la leche de su madre. La leche de mujer está adaptada a la fisiología del lactante, desde el punto de vista nutricional y digestivo, va cambiando en su composición y se ajusta a las características fisiológicas del bebé. Su baja concentración en **sodio** es un elemento favorable para evitar en el futuro la aparición de hipertensión arterial y afecciones renales. Está constituida por 80% de **agua**, lo que garantiza la demanda de líquidos necesarios durante el periodo de amamantamiento, aún en climas secos y calurosos (12) (14) (19).

### 1.2 PRODUCCIÓN DE LA LECHE HUMANA

Leche materna se produce en glándulas secretoras que contienen tejido glandular productor de leche llamadas mamas, estas tienen un tejido de soporte constituido por grasas, ligamentos y vasos sanguíneos. Externamente, la mama presenta la areola y el pezón. La areola es una superficie circular que rodea al pezón, de coloración más oscura que el resto de la mama, contiene glándulas sebáceas





encargadas de proteger con sustancias antimicrobianas y lubricantes; el pezón es el extremo de la mama, contiene gran inervación y es responsable de los reflejos de la lactancia y de la forma que adquiere durante la alimentación. Para producir la leche, las células alveolares obtienen sus elementos por dos mecanismos:

1. Por *síntesis* dentro de la célula misma, y
2. Por *transporte* desde el plasma sanguíneo (5) (9).

Todas las células secretoras de la glándula mamaria funcionan como una unidad y producen todos los compuestos de la leche. La secreción láctea es continua aunque la evacuación de la glándula mamaria es discontinua y no todos los alveolos funcionan de forma sincrónica durante la secreción teniendo lugar en las células epiteliales de los alveolos de la glándula mamaria; la glándula sintetiza los constituyentes de la leche y los cede al lumen glandular por diferentes mecanismos (12).

- Difusión
- Exocitosis
- Secreción apocrina
- Pinocitosis, las inmunoglobulinas son transportadas por las células alveolares a través de un receptor transcelular. La IgA, que es la inmunoglobulina más abundante en la leche, es sintetizada por células plasmáticas presentes en la glándula mamaria.
- Vía paracelular, Las células que se encuentran en la leche (macrófagos, neutrófilos, linfocitos B y T) son secretadas por esta vía, a través de soluciones de continuidad entre las células alveolares. El calostro contiene un abundante componente celular que mayoritariamente es aportado por esta vía. Estos espacios o soluciones de continuidad intercelulares que se observan claramente al final de la gestación, en su mayoría se cierran cuando la lactancia está bien establecida y se abren nuevamente durante el destete y también frente a la presencia de mastitis (9).



En las células epiteliales de la glándula mamaria existen células madre y células alveolares secretoras, las primeras son estimuladas por la hormona del crecimiento y la insulina. La producción de las células alveolares secretoras es estimulada por la prolactina (12).

### 1.3 COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES DE LA LECHE MATERNA

En el ser humano la leche materna es indispensable, es la base del desarrollo cerebral, ofrece al niño el alimento ideal y completo durante los primeros 6 meses de vida, y sigue siendo la óptima fuente de lácteos durante los primeros dos años, al ser complementada con otros alimentos. Es única por su composición y por su formación, está adaptada a las necesidades del bebé a su crecimiento y a sus defensas naturales. La leche humana va cambiando su composición química desde el parto, calostro, leche de transición, leche madura (9) (14) (18) (27).

La composición de la leche humana es muy compleja; se conocen muchos de sus elementos; se han identificado más de 200 componentes, aunque de algunos no se sabe exactamente cuál es su función. La leche de mujer se elabora según un patrón y un código genético humano, propio de nuestra especie. La leche contiene células vivas (macrófagos, neutrófilos, linfocitos, células epiteliales) y glóbulos de grasa, rodeados de membranas; lo que ocasiona el cambio del sabor, según los alimentos que haya comido la madre (14) (27).

#### 1.3.1 Composición de la leche materna.

- **Agua:** Representa aproximadamente el 88 a 90%, y su osmolaridad semejante al plasma, está en relación directa con el estado de hidratación, permite al niño mantener un perfecto equilibrio electrolítico. Si la mujer lactante disminuye su ingesta, el organismo conserva líquidos a través de la disminución de pérdidas insensibles y orina para mantener la producción de leche (9) (18).
- **Carbohidratos:** El principal azúcar es la lactosa, con un alto contenido (7g/dL), un valor osmótico fundamental para mantener la densidad de la leche a través del agua. La lactosa parece ser un nutriente específico para



el primer año de vida, ya que la enzima lactasa que la metaboliza sólo se encuentra en los mamíferos infantiles mientras se alimentan con leche materna. De ahí que la mayoría de las personas presentan intolerancia a la lactosa después de la infancia (18). Además existen más de 50 oligosacáridos que constituyen el 1.2% de la leche, poseen un efecto benéfico para el desarrollo del *lactobacillus bifidus* (9) (18).

La alta concentración de lactosa en la leche humana facilita la absorción del calcio y el hierro y promueve la colonización intestinal con el *lactobacillus bifidus*; flora microbiana fermentativa que al mantener un ambiente ácido en el intestino inhibe el crecimiento de bacterias, hongos y parásitos. Además de la lactosa, incluye glucosa, galactosa, fructosa, n-acetilglucosamina y ácido siálico y representan una porción significativa del nitrógeno no proteico de la leche humana (9).

- **Lípidos.** Constituyen la mayor fracción energética de la leche y alcanzan hasta el 60 % del total de la energía. El 97-98 % están compuestos por triglicéridos, entre los cuales los ácidos grasos poli insaturados de cadena larga representan hasta el 88 %. La leche humana, contiene una cantidad variable de ácidos preformados araquidónico (AA) y docosahexaenoico (DHA), de gran importancia para el recién nacido a término y pre término (18), ya que participan en la formación de la sustancia gris y en la mielinización de las fibras nerviosas. Es el componente con mayores variaciones de su concentración durante la lactancia (9) (18).
- **Proteínas.** Entre los mamíferos, la leche humana madura posee la concentración más baja de proteína (0,9 g/100 mL). Sin embargo es la cantidad adecuada para el crecimiento óptimo del niño. La cantidad de proteínas es mayor durante las primeras semanas, y va decreciendo desde 15,8 hasta 8-9 g/L con el establecimiento de la lactancia. Las principales proteínas corresponde a caseína (40%) y el 60% restante a proteínas del suero: lisozima, lactoalbúmina, lactoferrina que contribuye a la absorción de hierro en el intestino del niño y lo fija, evitando que sea usado por las bacterias. La principal es la IgA secretora cuya función consiste en proteger



las mucosas del recién nacido y es producida por el denominado ciclo enteromamario, encontrándose en muy altas concentraciones en el calostro. La proporción de inmunoglobulinas en la leche se modifica progresivamente hasta llegar al nivel que se mantendrá en la leche madura, más o menos a los 14 días postparto. El calostro tiene 1740 mg/100 mL de IgA contra 43 mg/100 mL de IgG. La leche madura tiene 100 mg/100 mL de IgA contra 4 mg/100 mL de IgG (9) (18).

- **Vitaminas Liposolubles.** La absorción de vitaminas liposolubles en el lactante está relacionada con la variabilidad de la concentración de la grasa en la leche materna (18).
  - **Vitamina A,** su concentración en la leche materna es mayor que en la leche de vaca. En el calostro es el doble que en la leche madura.
  - **Vitamina K,** su concentración es mayor en el calostro y en la leche de transición. Cuando no se da el calostro, el riesgo de enfermedad hemorrágicas mayor, a menos que se provea al niño vitamina K inmediatamente después del nacimiento.
  - **Vitamina E,** en la leche humana cubre las necesidades del niño a menos que la madre consuma cantidades excesivas de grasas poli insaturadas sin un aumento paralelo de vitamina E.
  - **Vitamina D,** su concentración en la leche humana es bajo (0,15 mg / 100mL), no se procesa en el tracto gastrointestinal, sino a través de la piel en presencia de luz solar (18).
- **Vitaminas Hidrosolubles.** En estas vitaminas pueden ocurrir variaciones dependiendo de la dieta materna. Los niveles son más altos en las madres bien nutridas. Aunque las madres no presentan signos, la insuficiencia de estas vitaminas en la leche puede tener consecuencias adversas para el niño. De ahí que es necesario que la madre las consuma diariamente en su dieta (9).



- **Minerales y elementos traza.** Las cantidades que se encuentran son suficientes para las necesidades del lactante, no influyendo la dieta de la madre en las concentraciones del hierro y calcio. La concentración de la mayoría de los minerales en la leche humana: calcio, hierro, fósforo, magnesio, zinc, potasio y flúor, cobre, cobalto, selenio, no es afectada significativamente por la dieta materna. Las concentraciones de minerales en la leche humana son más bajas que en cualquiera de los sustitutos y están mejor adaptados a los requerimientos nutricionales y capacidades metabólicas del lactante (9) (18).

## 1.4 TIPOS DE LECHE

**1.4.1 Calostro (primera leche):** La secreción de los pechos durante los primeros días después del parto (3 a 4 días) es amarilla y más espesa de alta densidad y poco volumen que la leche madura y contiene más anticuerpos y más leucocitos, los cuales se encuentran en una composición muy alta. En los 3 primeros días postparto el volumen producido es de 2 a 20 mL por mamada, siendo suficiente para satisfacer las necesidades del recién nacido (9) (16).

Está constituida de proteínas (2 g/100 mL), minerales, células y factores solubles que están deficientes en el neonato, además contiene menos grasa (2 g/100 mL) vitaminas hidrosolubles e hidratos de carbono (4 g/100 mL de lactosa) que la leche madura o de continuación. En cambio contiene mayor cantidad vitaminas liposolubles (E, A, K), carotenos y algunos minerales como sodio y zinc. El beta caroteno le confiere el color amarillento y el sodio un sabor ligeramente salado. La concentración de sodio es de 48mg/100mL, al día y su pH de 7.45 favorece el vaciamiento gástrico (8) (9) (18).

En el calostro la concentración promedio de IgA y la lactoferrina, están muy elevadas, y aunque se diluyen al aumentar la producción de leche, se mantiene una producción diaria de 2-3 g de IgA y lactoferrina. Junto a los oligosacáridos, que también están elevados en el calostro (20 g/L), una gran cantidad de linfocitos



y macrófagos ( $100.000 \text{ mm}^3$ ) confieren al recién nacido una eficiente protección contra los gérmenes del medio ambiente (14).

Esto es exactamente lo que el niño necesita en este momento, ya que al nacer se va a encontrar rodeado de muchos virus y bacterias contra los cuales necesita ser protegido. El volumen de calostro que produce la mamá es muy pequeño, pero el niño necesita más. Normalmente, el recién nacido viene con reservas alimenticias y líquidas suficientes para que pueda esperar durante las primeras horas de su nacimiento hasta que la madre produzca la suficiente cantidad de leche (3).

#### **1.4.1.1 Propiedades nutricionales del calostro.**

El calostro está ajustado a las necesidades específicas del recién nacido:

- Facilita la eliminación del meconio.
- Facilita la reproducción del lactobacillus bífidus en el lumen intestinal del recién nacido.
- Los antioxidantes y las quinonas son necesarias para protegerlo del daño oxidativo y enfermedad hemorrágica.
- Las inmunoglobulinas cubren el revestimiento interior inmaduro del tracto digestivo previniendo la adherencia de bacterias, virus, parásitos y otros patógenos.
- El escaso volumen permite al niño organizar progresivamente su tríplico funcional succión-deglución-respiración.
- Los factores de crecimiento estimulan la maduración de los sistemas propios del niño.
- Los riñones inmaduros del neonato no pueden manejar grandes volúmenes de líquido; tanto el volumen del calostro como su osmolaridad son adecuados a su madurez (2) (9).



**1.4.2 Leche de Transición.** Es la leche que se produce entre el quinto y décimo día después del parto aproximadamente. Entre el 4º y el 6º día se produce un aumento brusco en la producción de leche (subida de la leche), la que sigue aumentando hasta alcanzar un volumen notable, aproximadamente 600 a 800 mL/día. Tiene un mayor contenido de grasa, lactosa y vitaminas hidrosolubles que el calostro y, por lo tanto, suministra más calorías al recién nacido, adecuándose a las necesidades de éste conforme transcurren los días. Esta leche de composición intermedia va variando hasta alcanzar la composición de la leche madura, entre los 8 a 15 días postparto (2) (8) (9) (18).

**1.4.2.1 Variabilidad de los contenidos del calostro y de la leche de transición.**

El calostro se segrega en dos fases, una inicial de pequeña dimensión al final del embarazo, y una segunda que dura los primeros 5 días después del parto. El calostro es un compuesto espeso y amarillento, debido al  $\beta$ -caroteno o vitamina A, que se segrega en la mama durante los primeros días posparto. Esta secreción es diferente a la leche de transición y a la leche madura. Este compuesto es importante para el neonato y para su adaptación fisiológica desde la nutrición dependiente de la madre hasta la independiente. El contenido secretado en 24 horas suele ser menor de 100 mL, es decir, entre 5 y 20 mL por toma. Su valor calórico medio es de 67 kilocalorías por cada 100 mL de calostro (15).

La concentración de iones como sodio, potasio y cloro así como proteínas, vitaminas liposolubles, minerales y antioxidantes, es superior a la leche de transición y a la leche madura. El contenido de inmunoglobulinas, concretamente la inmunoglobulina A secretora, de células inmunológicas mononucleares, así como de anticuerpos, también es mayor; estos últimos impiden la multiplicación bacteriana y vírica del canal del parto y del ambiente. El calostro favorece el crecimiento de la flora bífida en el tubo digestivo y facilita la expulsión de las primeras deposiciones. El meconio está compuesto por células epiteliales, líquido amniótico, moco y por un factor de crecimiento muy importante para el *lactobacillus bifidus*, primer medio de cultivo en el intestino estéril del recién



nacido. El calostro también tiene efectos laxantes, lo que facilita la limpieza del tubo digestivo (15).

La leche de transición se produce entre el calostro y la leche madura; su composición cambia paulatinamente desde el séptimo día hasta 15 días después del parto. Durante esos días, los niveles de proteínas, inmunoglobulinas y vitaminas liposolubles disminuyen, y aumentan la lactosa, las grasas, las vitaminas hidrosolubles y el valor calórico total. Los cambios en esa composición son muy rápidos durante los primeros 7 días de vida, se realizan en los días siguientes y finalizan con la estabilización de la leche madura (15).

### **1.4.3 Leche Madura.**

Se produce a partir del décimo día. A lo largo de las semanas que siguen al parto, aumenta la cantidad de leche que la madre produce, y la apariencia y composición de ésta cambian. Se vuelve menos espesa y comienza a verse azulosa y aguada. A pesar de su aspecto, la leche madura contiene todos los nutrientes que el niño necesita para crecer durante los primeros cuatro a seis meses, sin recibir nada más, gracias a su gran variedad de elementos, de los cuales sólo algunos son conocidos, son de excelente calidad y en suficiente cantidad, para que el niño los siga recibiendo, junto con los alimentos complementarios (9) (16) (18).

La variación de sus componentes se observa no sólo entre mujeres, sino también en la misma madre, entre ambos senos, entre lactadas, durante una misma mamada y en las distintas etapas de la lactancia. Estas variaciones no son aleatorias, sino funcionales, y cada vez está más claro que están directamente relacionadas con las necesidades del niño. El volumen promedio de leche madura producida por una mujer es de 700 a 900 mL/día durante los 6 primeros meses postparto y aproximadamente 500 mL/día en el segundo semestre, aportando 75 Kcal /100mL. Si la madre tiene que alimentar a más de un niño, producirá un volumen suficiente (de 700 a 900 mL) para cada uno de ellos (9).





### **1.5 PROPIEDAD ANTIALÉRGICA DE LA LECHE MATERNA.**

La IgA del calostro y de la leche madura, recubre la mucosa intestinal y previene la absorción de macromoléculas extrañas cuando el sistema inmune del niño aún es inmaduro. Las proteínas de la leche materna son específicas de la especie humana, por lo que los niños amamantados no desarrollan anticuerpos contra ellas (9).

### **1.6 IMPORTANCIA NUTRICIONAL**

Desde el punto de vista nutricional, la leche materna es superior a las fórmulas derivadas de la leche y de otras fuentes, ya que los nutrientes que contiene están en cantidad y proporción adecuada para lograr una máxima biodisponibilidad en el lactante menor de un año. La osmolaridad de la leche materna y su contenido en enzimas digestivas y en factores moduladores de crecimiento permiten su mejor digestibilidad y contribuyen al desarrollo del tubo digestivo durante los primeros meses de vida del niño. Desde el punto de vista nutricional, la infancia es un período muy vulnerable, ya que es el único período en que un solo alimento es la única fuente de nutrición, es una etapa de maduración y desarrollo de sus órganos. Es un fluido vivo que cubre los requerimientos nutricionales e inmunológicos del niño a medida que éste crece y se desarrolla (9) (14).

### **1.7 COMPONENTES CELULARES**

Los leucocitos están en una concentración similar a la que se encuentran en la sangre periférica, pero con predominancia de macrófagos en vez de neutrófilos. Los macrófagos son los que están en mayor cantidad (80%), le siguen los linfocitos y luego los granulocitos, neutrófilos. El mecanismo de acción es la fagocitosis y la secreción de algunas sustancias inmunológicas con cierta especificidad contra los gérmenes con los que la madre ha tenido contacto. La concentración de todos estos elementos es mayor en el calostro que en la leche madura, pero se compensa por el mayor volumen de leche, de manera que la cantidad total se mantiene relativamente constante durante toda la lactancia (9).



## 1.8 APOORTE INMUNOLÓGICO

La presencia de inmunoglobulinas, lactoferrina, lisozima y células linfocíticas vivas en la leche materna producen una protección local y general contra las infecciones que pudieran arriesgar la salud y estado nutritivo del niño. La leche materna, concebida como órgano vivo, transmite y trasplanta en el niño menor la experiencia inmunológica de su madre adulta. El recién nacido recibe inmunoglobulinas de la clase IgG a través del transporte placentario, pero las produce lentamente en los primeros meses, debido a la menor función de sus linfocitos T y B. Presenta, además, un déficit relativo de IgA, y inmunoglobulina IgA secretora (SIgA). Por esta razón es dependiente de la inmunidad que recibe de la madre (16).

La leche materna aporta al niño inmunoglobulinas IgG e IgM y, especialmente, SIgA, que es el anticuerpo dominante y que se sintetiza en la glándula mamaria. El niño recibe 0,5 g diarios de SIgA por la leche materna, la cual es resistente a la destrucción por enzimas proteolíticas y se une a bacterias, virus y antígenos, constituyendo una defensa local muy importante. En la fracción SIgA de la leche humana se han descrito anticuerpos contra muchas bacterias y virus. La SIgA es considerada como la primera línea de defensa contra patógenos; la especificidad de estos anticuerpos SIgA de la leche es un reflejo de los antígenos respiratorios y entéricos de la madre, los cuales proveen protección al recién nacido contra patógenos que son prevalentes en su ambiente (10) (14).

## 1.9 INMUNOGLOBULINA A

En la inmunidad específica intervienen las inmunoglobulinas, las cuales son anticuerpos que defienden contra infecciones y suelen ser 5: IgM, IgG, IgA, SIgA, IgE. Habiendo que enfatizar que el calostro las contiene todas.

**IgA:** Es la inmunoglobulina más importante en la inmunidad de mucosas y la principal en la lactancia materna. Su concentración en suero es de 0.5 y 5 mg/mL, en la leche materna entre 3 y 7 mg/mL y en el calostro entre 9.5 y 10 mg/mL, su

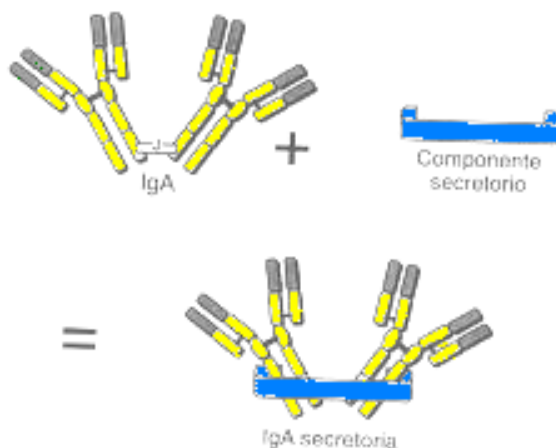
actividad está relacionada de forma esencial con la inmunidad de las mucosas donde puede actuar a niveles diferentes, evita la penetración de los antígenos en la pared del intestino, neutraliza la actividad de algunos virus y toxinas dentro y fuera de las células epiteliales, no activa la cascada del complemento, inhibe la adherencia a mucosas de *Shigella*, *V. cholerae*, *Campylobacter*, *Giardia lamblia*, *Escherichia coli*, y participa en la eliminación de inmuno complejos (16) (18) (25).

Constituye aproximadamente 15% de las inmunoglobulinas séricas y predomina en su forma secretora en saliva, lágrimas, sudor, leche humana y calostro.

La IgA tiene una masa molecular que oscila entre 170.000 y 720.000, ya que forma estructuras poliméricas de la unidad estructural básica; la cadena H es del isotipo  $\alpha$ , contiene un 7-12% en peso de glúcidos (21) (4).

- **SIgA:** La IgA secretora humana (SIgA) es estructural y funcionalmente liberada por el ambiente mucosal, con la capacidad de neutralizar antígenos, participa en la aglutinación y exclusión de estos y previene la adherencia de patógenos a las superficies del epitelio mucosal (28).

### ESTRUCTURA DE LA IgA SECRETORA



(11)

La IgA es el isotipo de anticuerpo con mayores niveles en las superficies mucosales y representa la segunda en concentración entre las inmunoglobulinas



circulantes. La IgA secretora (SIgA) es liberada en los fluidos mucosales mediante el proceso de transcitosis, el cual involucra la unión al receptor polimérico de inmunoglobulina (IgRp) en la cara baso-lateral de las células epiteliales, seguido de liberación y translocación al lado apical en forma de complejo con el componente secretor (1) (20) (21).

La SIgA es considerada como la primera línea de defensa contra patógenos que colonizan e invaden las superficies que se encuentran cubiertas por secreciones. Es ampliamente conocido que la SIgA juega un papel importante en la protección contra infecciones causadas por enteropatógenos y virus (10).

**1.9.1 Estructura, síntesis y funciones.** La SIgA existe como una molécula polimérica compuesta de dos o más monómeros de SIgA, el peso molecular de cada monómero es de 300 kDa y está compuesto de una cadena J que las une (15.6 kDa) y un componente secretor (70 kDa). Cada monómero SIgA está formado de 4 polipéptidos, dos cadenas pesadas  $\alpha$  y dos cadenas ligeras  $\kappa$  ó  $\lambda$  unidas covalentemente por enlaces bisulfuro. El componente secretor es una proteína altamente glicosilada producida por las células epiteliales de la mucosa. Dicho componente secretor es muy importante porque estabiliza la estructura polimérica de la SIgA. Solamente los PMN neutrófilos presentan un receptor para la IgA (10) (25).

En el humano hay dos subclases de IgA; IgA1 e IgA2. Las cadenas pesadas de IgA1 e IgA2 difieren solamente por 22 aminoácidos, tales diferencias estructurales le otorgan a la IgA2 resistencia a la acción de proteasas bacterianas que cortan específicamente a la IgA1 en la región de la bisagra. Estas proteasas que digieren a la IgA1 son producidas por varias bacterias patógenas de la mucosa y se piensa que interfieren con las propiedades protectoras de los anticuerpos SIgA. En los fluidos internos la IgA1 constituye el 90 % de los anticuerpos IgA; en las secreciones mucosas, la IgA1 supone un 40-60 % y la IgA2 hasta el 60 %. La resistencia intrínseca de la SIgA a la proteólisis, la cual es reforzada por la presencia del componente secretor y los oligosacáridos que porta preservan las



funciones biológicas de la molécula en las secreciones. La polivalencia de la SIgA (formación de dímeros y tetrámeros) aumenta su potencial para aglutinar a las bacterias y neutralizar toxinas, enzimas y virus. La disminución de la habilidad de SIgA para activar el complemento y opsonizar bacterias por fagocitosis puede limitar las reacciones de inflamación local y el daño al tejido mucoso (10) (25).

### 1.9.2 Papel biológico de la IgA de las secreciones:

- En la luz, tiene una función antiviral (tanto frente virus que producen infecciones locales como a virus que se diseminan). La SIgA neutraliza los virus impidiendo la colonización de la mucosa. También desarrolla una función antibacteriana porque impide la adherencia y colonización de las superficies mucosas. Además puede neutralizar toxinas bacterianas (cólera) y llevar a cabo una acción antiparasitaria.
- Intra-epitelial, neutralización de los virus dentro de las células endoteliales infectadas.
- En la Lámina Propia, se forman muchos complejos inmunes dado el contacto tan frecuente con los antígenos. La SIgA contribuirá a eliminarlos hacia la luz (Ag + IgG + IgA). Por otro lado, la IgA es muy poco inflamatoria (activa poco al Complemento). Los complejos formados con IgA tienen muchas menos posibilidades de desencadenar enfermedad por inmuno complejos (15).

## 1.10 VENTAJAS DE LA LACTANCIA MATERNA

La lactancia materna tiene innumerables ventajas para el niño, para la madre, para la sociedad. Algunas de ellas son las siguientes:

- **Nutrición óptima.** Ningún alimento es mejor que la leche materna en cuanto a calidad, consistencia, temperatura, composición y equilibrio de sus nutrientes. Su composición cambia y se adapta a los requerimientos del niño. Adaptaciones metabólicas de la madre permiten un máximo aprovechamiento de sus reservas y de los alimentos ingeridos (12).



- **Protección inmunológica.** La leche materna es indispensable para formar un eficiente sistema inmunitario en el niño y para sentar las bases de una buena salud general para el adulto. El niño amamantado, rara vez presenta enfermedades digestivas, respiratorias, otitis y alergias. El calostro y la leche de transición contienen suficiente inmunoglobulina IgA que protege al niño mientras él es capaz de producirla (12) (16).
- **Prevención de alergias.** Los bebés alimentados con leche materna sufren menos alergias a alimentos, factores ambientales y en la piel. La lactancia materna previene las alergias por dos razones principales: el bebé está expuesto a menos alérgenos en los primeros meses de vida, que es la etapa más susceptible y la cubierta protectora que ofrece el calostro evita que potenciales alérgenos penetren el sistema del bebé (3) (9) (17).
- **Fácil digestibilidad.** Por tener la concentración adecuada de grasas, proteínas y lactosa, la leche materna es de muy fácil digestión. Se aprovechan al máximo todos sus nutrientes y no produce estreñimiento ni sobrecarga renal (16).
- **Crecimiento y desarrollo óptimo.** Los niños pueden ser alimentados hasta los 6 meses sólo con leche materna, asegurando con ello un desarrollo y crecimiento normales y continuarán creciendo bien si a esa edad se inicia la alimentación complementaria y se mantiene la leche materna como único alimento lácteo hasta los 12 meses (16).
- **Organización sensorial.** El contacto físico del niño con la madre durante el amamantamiento organiza armónicamente sus patrones sensoriales y gratifica profundamente sus sentidos (12).
- **Organización biocronológica y del estado de alerta.** Durante al menos 3 meses el niño necesita tener contacto físico regular y constante con su madre para organizar sus propios ritmos basales y su estado de alerta. Disminuye el riesgo de apneas prolongadas, de asfixia por aspiración e incluso de la muerte súbita del lactante (12).
- **Desarrollo dentomaxilar y facial.** Del equilibrio funcional de la succión-deglución-respiración en los primeros meses de vida depende el buen



desarrollo dento-máximo-facial y la maduración de las futuras funciones bucales: masticación, expresión mimética y fono-articulación del lenguaje (12) (16).

- **Desarrollo intelectual del niño.** Los niños amamantados son más activos, presentan un mejor desarrollo psicomotor, capacidad de aprendizaje y menos trastornos de lenguaje que los niños alimentados con mamadera. Se asocia la lactancia materna con un mayor coeficiente intelectual en el niño (12).
- **Recuperación de la madre postparto.** Por el estímulo de succión inmediatamente después del parto, la oxitocina producida, además de estar destinada a la eyección de la leche, actúa simultáneamente sobre el útero contrayéndolo para evitar el sangrado y reducirlo a su tamaño original (16).
- **Establecimiento del apego.** El amamantamiento, especialmente si éste se inicia inmediatamente después del parto, produce un reconocimiento mutuo entre madre e hijo y se establece entre ellos un fuerte lazo afectivo o "apego". Este apego induce en la madre un profundo sentimiento de ternura, admiración y necesidad de protección para su pequeño hijo (16).
- **Equilibrio emocional de la madre.** La intensa unión e interdependencia de la madre con su hijo que amamanta, produce en ella un sentimiento de valoración de sí misma y un equilibrio emocional en su desarrollo integral como mujer (16).
- **Espaciamiento de los nacimientos.** Si durante los primeros 6 meses después del parto, la madre permanece amenorreica y en lactancia materna exclusiva, evita el embarazo en el 98% de los casos. Siendo el LAM (método lactancia materna y amenorrea) el método anticonceptivo natural más eficaz recomendado (16).



## 2. MATERIALES Y MÉTODO

Se realizó un estudio no experimental, descriptivo, transversal, para establecer la concentración de Inmunoglobulina A en leche humana en sus 3 fases: calostro, transición y leche madura, en pacientes primíparas, multíparas con parto a término y en periodo de lactancia, que ingresaron con diagnóstico de labor de parto y con un embarazo mayor de 38 semanas en la Fundación Humanitaria “Pablo Jaramillo Crespo”. Las muestras obtenidas en dicha institución fueron procesadas en el Laboratorio de Análisis Biológico de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca.

### 2.1 UNIVERSO DE ESTUDIO

El Universo de estudio consistió en 10 pacientes embarazadas quienes obtuvieron el producto de su gestación por parto o cesárea. La fuente de información fue la Historia Clínica de las pacientes antes descritas.

### 2.2 MUESTRA

La muestra fue constituida por las pacientes voluntarias que hayan leído y firmado el consentimiento informado, y que cumplieron los criterios de selección.

Del universo de estudio (10 pacientes) 7 pacientes cumplieron los siguientes criterios de inclusión:

- Primípara o multípara.
- Edad gestacional (mayor a 38 semanas de gestación).
- Trabajo de parto (normal o cesárea).
- Puerperio inmediato (24 horas), puerperio mediato (2 semanas).
- Aspectos organolépticos característicos de la leche (color, aspecto, acidez)





De las 7 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión fueron excluidas 2 por complicaciones maternas (anemia y mastitis postparto), quedando 5 pacientes que constituyeron la muestra.

## 2.3 VARIABLES

Se consideraron en las madres de puerperio inmediato (24h) y mediato (2 semanas) que acudieron para su alumbramiento a la sala de maternidad, como variables los tipos de leche: calostro, transición y madura, analizados mediante la técnica de inmunodifusión radial. Otros factores a considerar fueron, el tipo de parto, la paridad, la dieta y el estado de salud de la madre.

## 2.4 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN Y LA MUESTRA DE ESTUDIO

Se recolectaron las muestras de las madres en puerperio inmediato (24h) y mediato (2 semanas) que acudieron para su alumbramiento a la Fundación Pablo Jaramillo C., desde el 6 de Agosto al 27 de Septiembre del 2012, realizándose las siguientes actividades:

Entrevista: A cada paciente se le realizó una entrevista en la cual se le informó previamente sobre los objetivos de la investigación y como sería manejada la información. Además se le orientó y explicó la importancia para su hijo de la IgA contenida en la leche materna.

Consentimiento informado de participación en el estudio: A cada paciente se le solicitó su consentimiento por escrito para poder incluirle en el estudio. (Anexo1)

Formulario de registro: se colectó los datos de las pacientes voluntarias. Las identificaciones para cada paciente incluyeron un mismo código para la entrevista, el consentimiento y cada una de sus muestras. (Anexo2)

Toma de muestra: Se recolectaron volúmenes de 2-3 mL de leche humana durante los primeros 15 días después del parto, de madres donantes en puerperio



inmediato (24h) y mediato (2 semanas), con un succionador de leche con las debidas condiciones de aseo.

Transporte de las muestras: Una vez tomadas las muestras se procedió a trasvasarlas en tubos de plástico estériles tapa rosca, rotulados con el código correspondiente; trasladadas en cooler para preservar la muestra antes de su procesamiento.

#### **2.4.1 Procesamiento de la Muestra**

Una vez que las muestras llegaron al laboratorio de Análisis Biológico de la Universidad de Cuenca, se centrifugó a 8000 rpm durante 20 minutos. Se presentaron tres fases distintas: la capa superior, la porción lipídica; la capa intermedia, el líquido (suero) y la capa inferior, un "pellet", que consistía en los elementos celulares de la leche humana. La capa lipídica se eliminó y la fase líquida se transfirió a tubos eppendorf de 1,5mL. Se almacenaron a  $-4^{\circ}\text{C}$  hasta el análisis. La cantidad de IgA secretora se determinó mediante la técnica de inmunodifusión radial (IDR) "Biocientífica SA".

**2.4.1.1 Fundamento de la técnica de inmunodifusión radial (IDR) - Biocientífica SA,** Consiste en una inmuno-precipitación en agarosa entre un antígeno a cuantificar y su anticuerpo homólogo. Se realiza incorporando uno de los dos reactivos inmunes (generalmente el anticuerpo) uniformemente en una capa de agarosa y luego introduciendo el otro reactivo en pocillos cavados en el gel. El antígeno difunde radialmente en la mezcla gel-anticuerpo y se forma un disco o anillo visible en un punto que depende de la relación estequiométrica antígeno-anticuerpo. A medida que el antígeno difunde (16 -20 horas), aumenta el diámetro de precipitación hasta que el antígeno y anticuerpo reaccionan completamente. La relación entre el diámetro al cuadrado y la concentración es lineal. (Anexo 8)



**2.4.1.2 Procedimiento:** en un área libre de polvo, abrir la placa y permitir que se evapore el exceso de humedad. Luego se procede a sembrar 5 ul de muestra o patrón utilizando pipetas de precisión en el centro de cada pocillo, evitando derramar muestra fuera del pocillo, romper los bordes del mismo o introducir burbujas de aire. Las muestras de suero pueden necesitar ser diluidas para entrar en el rango de resolución de la placa, para ello se utiliza solución fisiológica; en el caso de que la concentración sea menor debe realizarse las siembras que sean necesarias (máximo 5 siembras en un mismo pocillo, dejando absorber por completo la siembra anterior) en un periodo máximo de 30 min. Colocar un algodón humedecido en el centro de la placa para mantener la humedad del agar. Tapar e incubar en posición invertida a temperatura ambiente, protegido de la luz durante 24 horas.

**2.4.1.3 Muestra de análisis:** la muestra a analizar es la fracción líquida de la leche materna. Para la siembra de estas muestras se procedió a realizar; para el 1º día, una dilución 1/4, del 2º día 1/2, ya que debido a la alta concentración de IgA en la muestra entera, esta rebasaría la capacidad de la técnica. En cambio para una mejor visualización del halo, se procedió a duplicar la siembra de las muestras del 5º al 9º día y se triplicó las muestras del 10º al 15º día, porque la concentración de IgA es menor.

**2.4.1.4 Cálculo de concentración:** al término del período de incubación, se procede a la lectura del halo formado alrededor de cada pocillo con una regla graduada con precisión de 0.1 mm. Los resultados se calcularán de acuerdo a una curva de calibración (Grafico1). Para obtener el valor de la concentración de IgA de acuerdo a dicha curva, se empleó la siguiente fórmula:

$$y = 0,1118X + 10,917$$

Despejando la fórmula:

$$X = \frac{y - 10,917}{0,1118}$$

En donde:

$Y$  = lectura del halo o  $d^2$  ( $\text{mm}^2$ ) (Anexo 4).

$X$  = concentración de IgA ( $\text{mg/dL}$ )

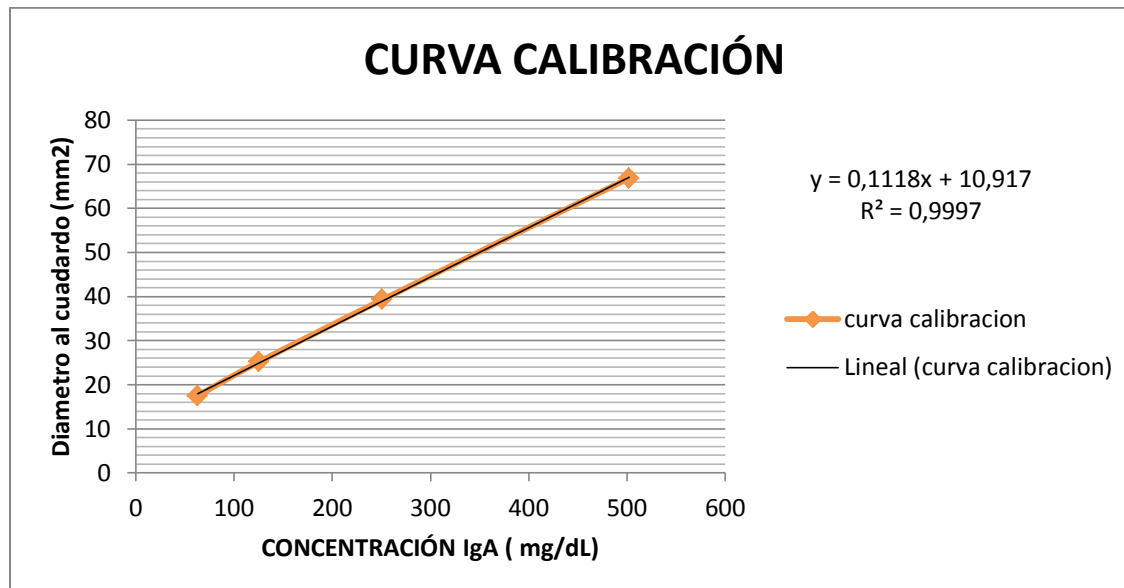
**2.4.2 Curva de calibración:** se efectuó una curva de calibración con el propósito de validar la efectividad de la técnica, además de obtener un estándar propio donde se interpolan los valores de lectura de los halos (diámetro cuadrado) de las muestras de leche materna analizadas para obtener la concentración de IgA. Para realizar la curva se partió de un suero control de inmunoglobulina A de concentración 251  $\text{mg/dL}$  perteneciente al laboratorio “Biocientífica SA. Para el primer valor se duplicó la concentración del suero control (sembrar 2 veces en el mismo pocillo), el segundo valor corresponde a la concentración original del suero control, para el tercer y cuarto valor se realizó diluciones 1/2 y 1/4, respectivamente, de la concentración original del suero control (Tabla 1).

**Tabla 1, Valores de la curva de Calibración para IgA.**

Concentración del Patrón ( $\text{mg / dL}$ )	Diámetro al Cuadrado ( $\text{mm}^2$ )
502	66,84
251	39.3
125.5	25.2
62.75	17.52

**Fuente:** Directa.

**Realizado por:** las Autoras

**Grafico 1. Curva de Calibración para concentración de IgA.****Fuente:** Directa.**Realizado por:** las Autoras

Por ejemplo, la muestra del día 5 perteneciente a la madre 3 (Tabla 2); da un halo de lectura de 27.89 mm<sup>2</sup> (diámetro al cuadrado) (Anexo 4), corresponde a una concentración de 151.82 mg/dL de IgA,

$$X = \frac{y - 10,917}{0,1118}$$

$$X = \frac{27,89 \text{ mm}^2 - 10,917}{0,1118}$$

$$X = 151.82 \text{ mg/dL}$$

$$X \text{ real} = 151.82 / 2$$

$$X \text{ real} = 75.91 \text{ mg/dL}$$



Pero este valor (151.82 mg/dL) lo dividimos para dos para obtener la concentración real de 75.91 mg/dL de IgA, ya que la muestra se sembró por duplicado para una mejor apreciación del halo.

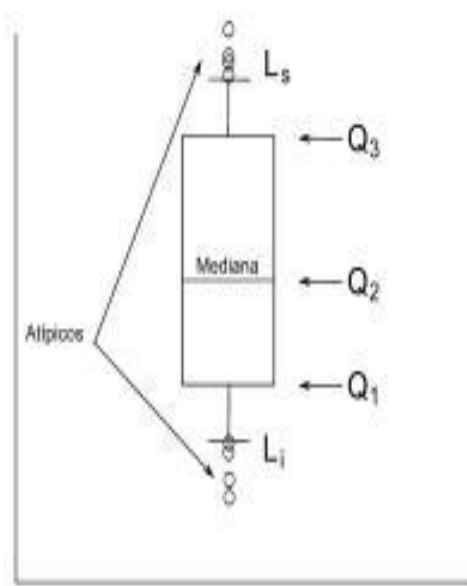
## 2.5 MANEJO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Los datos recolectados se organizaron en tablas diseñadas para el ingreso de la información proveniente de los formularios de encuesta y de los resultados de laboratorio; estos se procesaron para obtener la concentración de inmunoglobulina A en leche materna. Se utilizó Microsoft Excel para la confección de tablas de distribución y gráficos; en tanto que para realizar un análisis estadístico exploratorio de los datos obtenidos y procesados se utilizaron los métodos conocidos como DIAGRAMA DE CAJA y ANOVA (Análisis de las Varianzas), cuyos resultados servirán para apoyar la discusión y obtener las conclusiones correspondientes.

### DIAGRAMA DE CAJA

Los diagramas de caja son gráficos concisos que presentan un resumen de la distribución de los datos, basados en una medida de tendencia central que es la Mediana (segundo cuartil, Q2) y en una medida de dispersión que es el Rango Intercuartílico (RIC) igual a la diferencia entre el tercer cuartil (Q3) y el primer cuartil (Q1), estableciendo además valores extremos tanto inferior como superior (bigotes) Li y Ls de la serie de datos analizada. Para establecer los valores de los bigotes de los diagramas de caja existen muchos criterios, pero el más utilizado es el propuesto por (Tukey, 1977) en función de los cuartiles y el RIC de la serie de datos:

- Límite inferior=Primer cuartil – 1,5(RIC)
- Límite superior=Tercer cuartil + 1,5(RIC)



Una de las principales bondades de un Diagrama de Caja es el de identificar a los datos extremos de la serie analizada, los mismos que son aquellos datos que están fuera de los límites (bigotes) superior e inferior del diagrama. Estos datos son los llamados Atípicos y su identificación es el primer control de calidad de datos. Los valores atípicos pueden ser medidas erróneas o correctos valores extremos; una vez identificados estos valores se tiene que hacer un análisis de los mismos para rechazarlos en caso de ser medidas erróneas o aceptarlos como valores extremos si su fuente es confiable (26).

## ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA)

El análisis de la varianza (ANOVA) en forma general sirve para probar hipótesis a través de analizar la variabilidad (varianza), convirtiéndose en la herramienta estadística que sirve para resolver el problema de comparar más de dos medias comparando la variabilidad de las medias muestrales (a través de la varianza muestral) con la variabilidad de los elementos dentro de la muestra.

ANOVA es especialmente útil cuando se aplica a situaciones complejas ya que nos permite, mediante una prueba única y con un riesgo único, contestar



preguntas como: ¿los datos de un conjunto de poblaciones hipotéticas son diferentes entre sí?; ¿son estas diferencias significativas?

El procedimiento de comprobación que se emplea está basado en la comprobación de la varianza de todos los datos sin atender a su causa; se reparte la varianza total entre el factor comprobado y el error experimental: se comparan estas dos varianzas mediante una prueba F (prueba de Fisher), que es una distribución de frecuencias, que nos ayuda a decidir si dos procesos tienen o no una variabilidad semejante.

Si F es mayor que  $F_c$  se debe rechazar la hipótesis  $H_0$ , lo cual implica que existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las series de datos comparadas; y aceptar la hipótesis  $H_0$  si F es menor que  $F_c$ .

El ANOVA se basa en la comparación de la variabilidad media que hay entre los grupos con la que hay dentro de los grupos (26).



### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el período Octubre de 2012 a Enero de 2013, se procesaron setenta y cinco muestras por duplicado, de leche humana de mujeres en puerperio inmediato (24h) y mediato (2 semanas) voluntarias que cumplieron con los criterios de inclusión, y acudieron para su alumbramiento a la Fundación Pablo Jaramillo Crespo.

Las 5 madres que constituyeron la muestra nos proporcionaron una valiosa información, la misma que luego de ser tabulada y analizada nos ofrece los siguientes resultados:

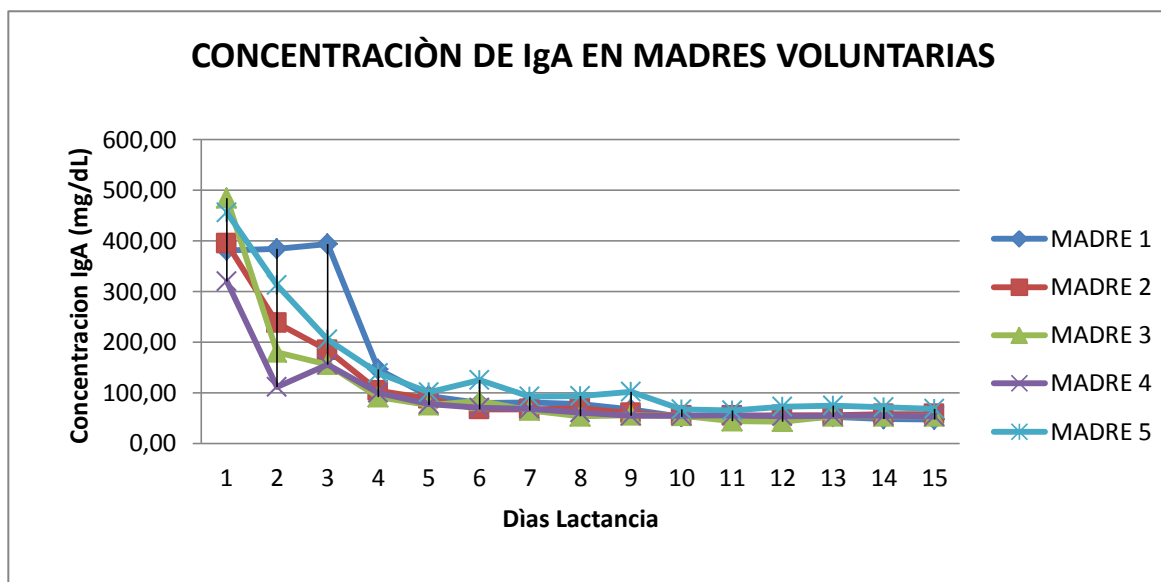
#### 3.1 RESULTADOS OBTENIDOS

##### 3.2.1 CONCENTRACIÓN DE IgA DURANTE LOS 15 DÍAS POSTPARTO.

**Tabla 2. Concentración de IgA en leche humana por día y por madre durante los 15 días postparto.**

DIA	Concentración de IgA (mg/dL)								
	M1	M 2	M 3	M 4	M 5	MEDIA	MINIMO	MAXIMO	DS
1	381,69	394,75	484,82	319,70	456,38	407,47	319,70	484,82	65,01
2	384,28	237,33	179,81	111,12	312,46	245,00	111,12	384,28	107,45
3	393,41	183,84	155,57	155,69	205,39	218,78	155,57	393,41	99,84
4	146,18	103,43	91,62	100,03	138,67	115,99	91,62	146,18	24,66
5	92,95	88,43	75,91	77,84	100,64	87,15	75,91	100,64	10,37
6	80,16	66,56	83,51	70,15	124,83	85,04	66,56	124,83	23,31
7	80,60	66,56	65,22	67,83	92,41	74,52	65,22	92,41	11,74
8	77,79	69,33	53,19	61,03	93,44	70,96	53,19	93,44	15,56
9	67,01	59,41	55,02	54,14	101,67	67,45	54,14	101,67	19,80
10	52,48	54,39	54,69	54,14	67,45	56,63	52,48	67,45	6,11
11	54,36	54,36	43,78	54,95	65,04	54,50	43,78	65,04	7,52
12	49,35	55,35	42,88	53,69	71,92	54,64	42,88	71,92	10,80
13	52,19	55,02	52,81	54,14	74,79	57,79	52,19	74,79	9,57
14	48,43	56,99	53,74	54,14	71,57	56,97	48,43	71,57	8,73
15	47,47	56,99	53,74	53,69	67,78	55,93	47,47	67,78	7,47

**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras

**Grafico 2. Concentración de la IgA por madre durante 15 días postparto.**

**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras.

El presente estudio nos indica que la concentración de IgA es notoriamente mayor en los primeros días de lactancia; para luego ir decreciendo su concentración hasta prácticamente estabilizarse al décimo día, brindando así un gran aporte inmunológico al lactante.

En el gráfico 2 se observa que, el grupo de estudio presenta concentraciones altas de IgA durante los primeros días de lactancia especialmente en las primeras 24 horas donde la madre brinda el mayor porcentaje de inmunidad pasiva al recién nacido; confrontado así lo expuesto por Pérez L. et al.(2009) en su estudio donde la IgA secretora resulto ser la inmunoglobulina de mayor concentración en todos los calostros estudiados, ya que la SIgA es considerada como la primera línea de defensa contra patógenos que colonizan e invaden las superficies que se encuentran cubiertas por secreciones.

**Tabla 3. Concentración promedio por día de IgA en leche humana en los 15 días postparto.**

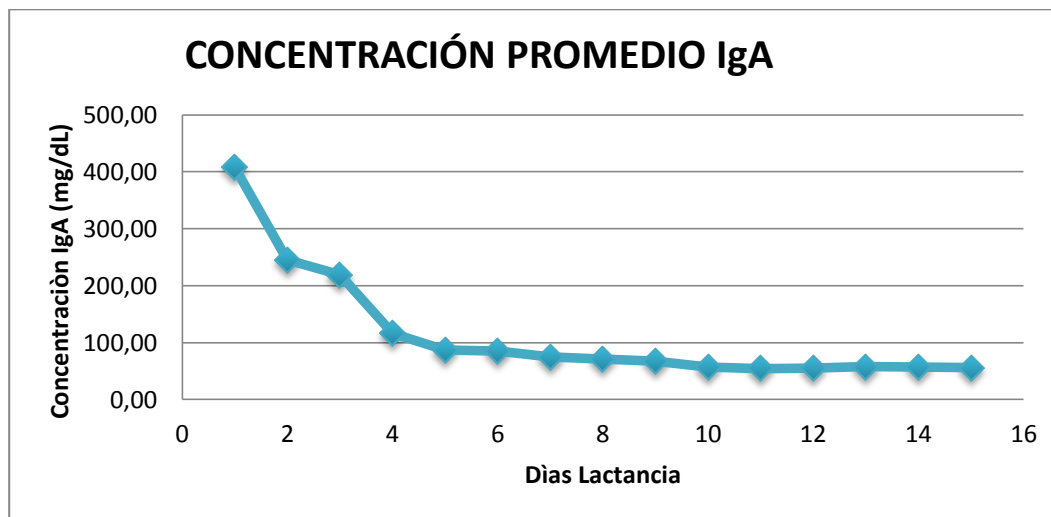
DIA	IgA (mg/dL)
1	407,47
2	245,00
3	218,78
4	115,99
5	87,15
6	85,04
7	74,52
8	70,96
9	67,45
10	56,63
11	54,50
12	54,64
13	57,79
14	56,97
15	55,93

	IgA (mg/dL)
MEDIA	113,92
DS	± 100,55

Fuente: Directa

Realizado por: las Autoras

**Grafico 3. Concentración promedio de IgA por día en leche humana, durante los 15 días postparto.**

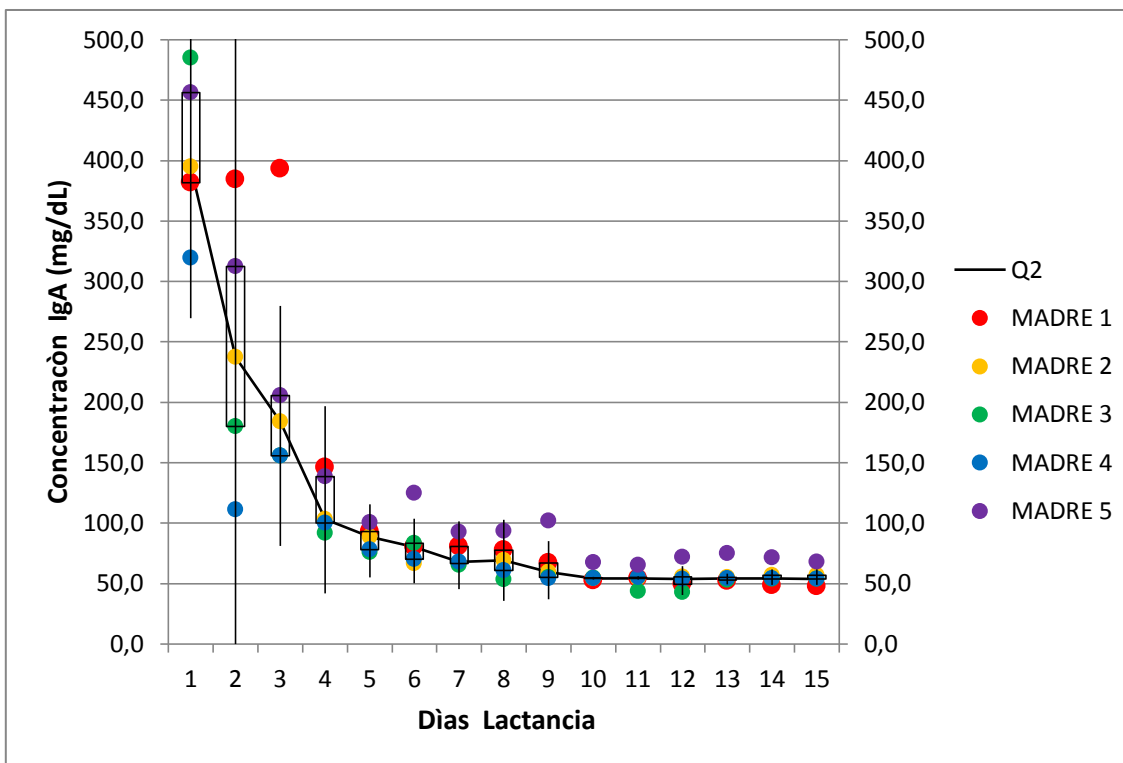


**Fuente:** Directa.

**Realizado por:** las Autoras.

Se realizó un cálculo del promedio de concentración de IgA por día (tabla 3), en leche humana durante los 15 días postparto, con la finalidad de abarcar todos los datos obtenidos del grupo de estudio y así demostrar la tendencia a disminuir de la IgA a partir del periodo de transición, para luego mantenerse dicha concentración aparentemente constante a lo largo del periodo de lactancia (gráfico 3); que podría atribuirse al aumento de volumen de leche conforme pasan los días. Comparando esta tendencia con lo indicado por [Kawano](#) (2013), quién midió los niveles de IgA secretora (SIgA) en la leche humana de madres después del parto mediante un inmuno-ensayo enzimático, en 3 días después del parto, y las semanas 1, 2, 3, 4, 8, y 12. Manifestando así que la concentración SIgA disminuyó gradualmente durante el período de 12 semanas, con el nivel más alto en el día 3.

**Grafico 4. Diagrama de caja de la concentración de IgA en leche humana por día y por madre voluntaria del estudio durante los 15 días postparto.**



**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras.

En el gráfico 4 se muestra los Diagramas de Caja para las concentraciones de IgA obtenidos durante los quince días post parto que duró el muestreo (Tabla 2) (Anexo 6). De primera mano se puede observar que los valores de todas las Madres del estudio tienen un comportamiento similar en todo el análisis, a excepción de la Madre 1 que durante los primeros tres días se sale de la tendencia del descenso de la concentración de IgA, esta madre presenta un aumento de la concentración de IgA, que tal vez podría atribuirse al tipo de alimentación y etnia. Debido a que la variación en los componentes de la leche materna, se observa no sólo entre mujeres, sino también en la misma madre, entre ambos senos, entre lactadas, y en las distintas etapas de la lactancia.



Estas variaciones no son aleatorias, sino funcionales, y están directamente relacionadas con las necesidades del niño (9).

Se puede notar que los valores correspondientes a la Madre 5, en los días 6 y 9 al 15 corresponden a valores atípicos, que son objeto de un análisis minucioso de sus valores, llevándonos a verificar el muestreo y análisis en estos días, concluyendo que el mismo estuvo bien realizado y que estos valores obtenidos no se deben a errores durante el análisis, sino son el resultado de un comportamiento propio de la Madre 5. Considerándose válidos estos valores; como se observa en el diagrama, la distribución de las concentraciones es asimétrica por la derecha o parte superior que corresponde al cuartil Q3 (75%); no existen valores atípicos para el estudio, es decir, valores que estén fuera del rango entre Máx. y Mín. Por debajo del primer cuartil Q1 (25%) se encuentra aproximadamente una cantidad menor de datos, no existen valores atípicos; sin embargo están dentro del límite permitido para los mínimos, ubicándose en la línea del bigote (madre 4).

### **3.2.2 CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE LA IgA SEGÚN LAS ETAPAS DE LA LECHE MATERNA.**

Se realizó la comparación de concentración de IgA por periodos con la finalidad de demostrar la hipótesis planteada para este estudio, donde la mayor concentración de IgA se encuentra en el calostro, pero va declinando conforme aumenta la producción de leche.

**Tabla 5. Comparación de la concentración promedio de IgA entre cada etapa postparto.**

	CALOSTRO (mg/dL)	TRANSICION (mg/dL)	MADURA (mg/dL)
MADRE 1	381,69	80,16	54,36
	384,28	80,6	49,35
	393,41	77,79	52,19
	146,18	67,01	48,43
	92,95	52,48	47,47
MADRE 2	394,75	66,56	54,36
	237,33	66,56	55,35
	183,84	69,33	55,02
	103,43	59,41	56,99
	88,43	54,39	56,99
MADRE 3	484,82	83,51	43,78
	179,81	65,22	42,88
	155,57	53,19	52,81
	91,62	55,02	53,74
	75,91	54,69	53,74
MADRE 4	319,7	70,15	54,95
	111,12	67,83	53,69
	155,69	61,03	54,14
	100,03	54,14	54,14
	77,84	54,14	53,69
MADRE 5	456,38	124,83	65,04
	312,46	92,41	71,92
	205,39	93,44	74,79
	138,67	101,67	71,57
	100,64	67,45	67,78

**Fuente:** Directa.

**Realizado por:** las autoras.



Los resultados de la comparación de la concentración de IgA por periodos (tabla 5), demuestra que la primera etapa de lactancia llamada calostro, es una secreción rica en IgA secretora., por lo que esto sugiere, que dicha inmunoglobulina desempeña un papel importante en la protección inmune pasiva contra infecciones gastrointestinales y respiratorias. Álvarez (2013).

Comparando con lo expuesto por Araujo E. et al. (2005) en su estudio donde observó una disminución significativa de la IgA concluido el primer periodo de lactancia (calostro), considerado durante los primeros 4 días de lactancia; al igual que lo expuesto por Béhar (1975) en su estudio de “Concentración de IgA en calostro y en leche de mujeres indígenas de Guatemala”, donde demostró que la concentración de IgA es alta en el calostro, y aunque luego desciende rápidamente, todavía se mantiene a niveles apreciables al año de lactancia, desempeñando un papel en la defensa del bebé al actuar en el lumen intestinal.

### **3.2.2.1 Análisis de varianza entre etapas de lactancia.**

Para las etapas de calostro, transición y madura se realizó un análisis de varianza, con la finalidad de verificar si existe alguna relación entre las variables, tomando como hipótesis de análisis que todas las medias de los datos entre los grupos calostro, transición y madura son iguales, y por lo tanto mantiene un comportamiento similar de concentración de la variable.



**Tabla 6. Análisis de varianza entre periodo de calostro y leche de transición.**

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
CALOSTRO	25	5371,94	214,877	17764,750
TRANSICION	25	1773,01	70,920	314,7246

TABLA DE ANOVA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	259045,94	1	259045,94	28,6563	0,000002397	4,04265
Dentro de los grupos	433907,40	48	9039,737			
Total	692953,34	49				

Fuente: Directa.  
Realizado por: las Autoras.

Comparando los dos periodos calostro y transición con ANOVA se puede observar en la tabla 6 que existe un valor de  $F = 28.65$  y  $F_c = 4,04$ ; esto quiere decir que  $F > F_c$  lo cual conlleva a un rechazo de la Hipótesis (medias y comportamiento iguales entre calostro y transición), ya que existe diferencia significativa ( $p = 0,0000023$ ) del comportamiento de la concentración de IgA entre estos dos periodos.

Tabla 7. Análisis de varianza entre periodo de leche de transición y madura.

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
TRANSICION	25	1773,01	70,9204	314,724696
MADURA	25	1399,17	55,9668	67,811356

TABLA DE ANOVA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2795,12691	1	2795,12691	14,61366	0,00037995	4,042651
Dentro de los grupos	9180,86524	48	191,268026			

Fuente: Directa.

Realizado por: las Autoras.

Comparando los dos periodos transición y madura con ANOVA (tabla 7) se puede observar que existe un valor de  $F = 14.61$  y  $F_c = 4,04$ ; esto quiere decir que  $F > F_c$  lo cual conlleva a un rechazo de la Hipótesis (medias y comportamiento iguales entre transición y madura), concluyendo que existe diferencia ( $p = 0,00037$ ) del comportamiento de la concentración de IgA en estos dos periodos.

**Tabla 8. Análisis de varianza entre periodo de calostro y leche madura.**

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
CALOSTRO	25	5371,94	214,8776	17764,750
MADURA	25	1399,17	55,9668	67,81135

TABLA DE ANOVA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	315658,02	1	315658,0	35,4024	0,000000298	4,0426519
Dentro de los grupos	427981,48	48	8916,280			
Total	743639,51	49				

Fuente: Directa.

Realizado por: las Autoras.

Comparando los dos periodos calostro y leche madura con ANOVA se puede observar en la tabla 8 que existe un valor de  $F = 35,40$  y  $F_c = 4,04$ ; esto quiere decir que  $F > F_c$  lo cual conlleva a un rechazo de la Hipótesis (medias y comportamiento iguales entre Calostro y leche madura), concluyendo que existe diferencia significativa ( $p = 0,0000002$ ) de la concentración de Inmunoglobulina A entre estos dos periodos.

Se evidencia que los valores de F entre calostro y leche madura es mucho mayor que para los otros periodos, debido a que en el periodo de Calostro se registran los valores más altos de IgA en tanto que en el período de leche madura los valores son bajos y empiezan a estabilizarse en un valor cercano a los 50.0 mg/dL.

### 3.2.3 CONCENTRACIÓN DE IgA SEGÚN LA PARIDAD

La paridad no influye en la cantidad de concentración de la IgA durante los 15 primeros días de lactancia.

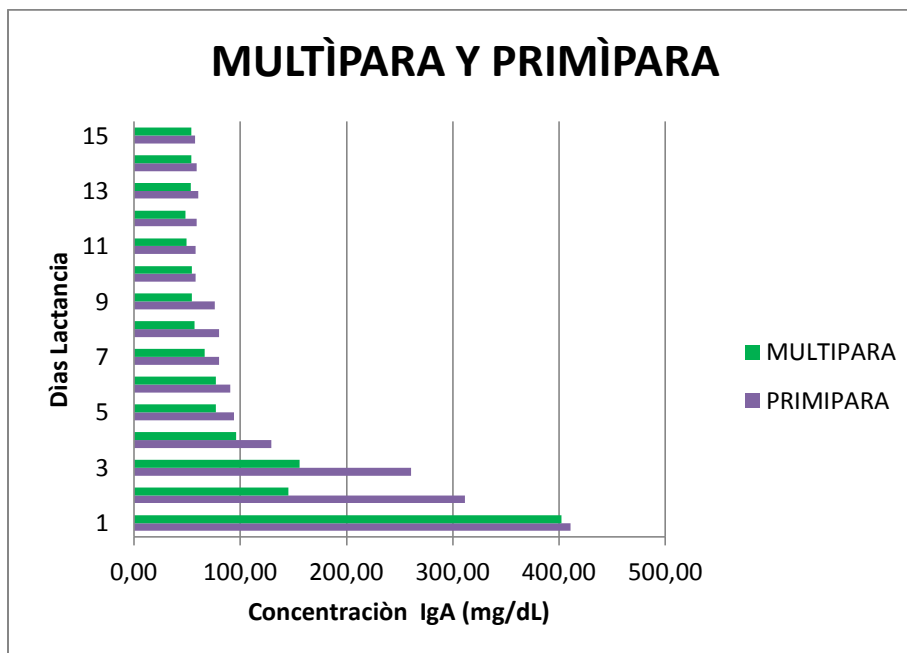
Se realizó un análisis de varianza, tomando como hipótesis de análisis que todas las medias de los datos entre madres primíparas y múltiparas son iguales.

**Tabla 9. Concentraciones promedio de IgA según la Paridad de la madre.**

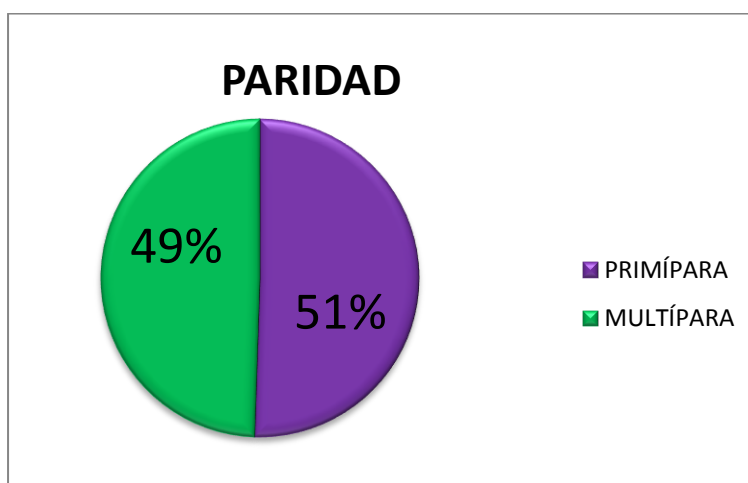
Día	Concentración IgA (mg/dL)	
	PRIMIPARA	MULTIPARA
1	410,94	402,26
2	311,36	145,47
3	260,88	155,63
4	129,43	95,83
5	94,01	76,87
6	90,52	76,83
7	79,86	66,52
8	80,19	57,11
9	76,03	54,58
10	58,11	54,41
11	57,92	49,36
12	58,87	48,29
13	60,66	53,48
14	58,99	53,94
15	57,41	53,71
MEDIA	125,68	96,29
DS	± 110,19	± 91,09

**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras.

**Grafico 5. Característica de la concentración de la IgA por paridad de la madre.**



**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras.



**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras.

Como se observa en el grafico 5, la concentración de IgA durante los 15 días posparto en madres múltiparas es de un 49%, en tanto que en madres primíparas la concentración de IgA presenta un porcentaje ligeramente mayor del 51%.

**Tabla 10. Análisis de varianza de concentraciones promedio de IgA según la paridad de la madre.**

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
PRIMIPARA	15	1885,1699	125,67799	12140,830
MULTIPARA	15	1444,2907	96,286047	8298,0763

ANALISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	6479,149	1	6479,1490	0,634001	0,43259079	4,19597
Dentro de los grupos	286144,6	28	10219,453			
Total	292623,8	29				

Fuente: Directa.  
Realizado por: las Autoras.

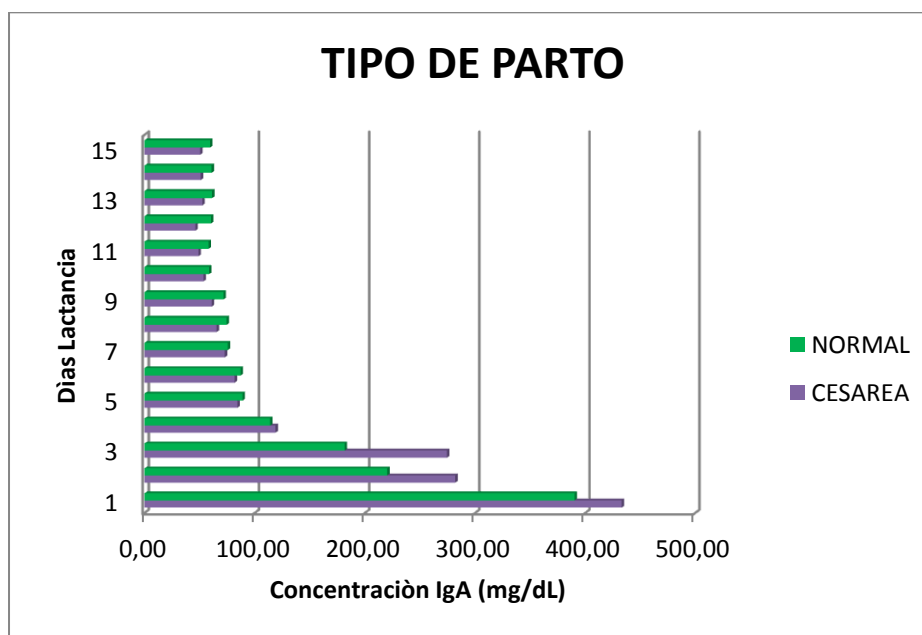
Al realizar la prueba ANOVA (tabla 10) se obtiene una significación baja ( $p > 0,05$ ), se acepta la hipótesis de que en todos los grupos las medias son iguales. Comparando la paridad se puede observar que existe un valor de  $F = 0,63$  y  $F_c = 4,19$ ; esto quiere decir que  $F < F_c$ ; por lo tanto se acepta la Hipótesis, se puede concluir que no existe diferencia significativa ( $p = 0.432$ ) entre estos dos grupos en cuanto a la concentración de IgA, es decir que ésta no depende del número de partos anteriores de la madre.

### 3.2.4 CONCENTRACIÓN DE IgA SEGÚN TIPO DE PARTO

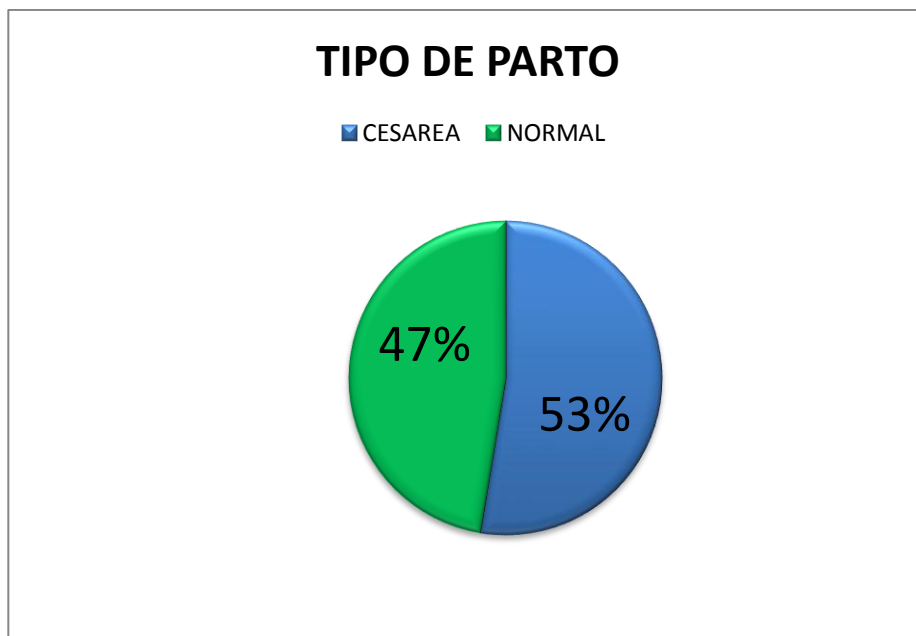
El tipo de parto no influye en la cantidad de concentración de la IgA durante los 15 primeros días de lactancia.

Se realizó un análisis de varianza, tomando como hipótesis de análisis que todas las medias de los datos entre madres por alumbramiento normal y cesárea son iguales.

**Grafico 6. Característica de la concentración de la IgA según el tipo de parto.**



**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras.



**Fuente:** Directa.

**Realizado por:** las Autoras.

Como se puede apreciar en el grafico 6, la leche de madres cuyo alumbramiento fue por cesárea presenta una concentración de IgA del 53%, a diferencia de un 47% de concentración de IgA en madres cuyo parto fue normal, durante los 15 días posparto de lactancia.



Tabla 11. Concentraciones promedio de IgA según el tipo de parto.

DIA	Concentración IgA (mg/dL)	
	CESAREA	NORMAL
1	433,26	390,28
2	282,05	220,30
3	274,49	181,64
4	118,90	114,04
5	84,43	88,97
6	81,83	87,18
7	72,91	75,60
8	65,49	74,60
9	61,02	71,74
10	53,59	58,66
11	49,07	58,12
12	46,12	60,32
13	52,50	61,31
14	51,08	60,90
15	50,61	59,48
MEDIA	118,49	110,88
DS	± 116,08	± 90,97

Fuente: Directa.

Realizado por: las Autoras

**Tabla 12. Análisis de varianza de concentraciones promedio de IgA según el tipo de parto.**

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
CESAREA	15	1777,32596	118,488397	13473,8347
NORMAL	15	1663,14643	110,876429	8275,08749

ANALISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	434,5654	1	434,5654	0,03996203	0,8429996	4,195971
Dentro de los grupos	304484,91	28	10874,46			
Total	304919,47	29				

Fuente: Directa  
Realizado por: las Autoras

Al realizar la prueba ANOVA (tabla 12) se obtiene una significación baja ( $p > 0,05$ ), se acepta la hipótesis de que en todos los grupos las medias son iguales. Comparando el tipo de parto se puede observar que existe un valor de  $F = 0,03$  y  $F_c = 4,19$ ; siendo  $F < F_c$ ; es decir se acepta la Hipótesis. Se puede concluir que no existe diferencia significativa ( $p = 0.842$ ) entre estos dos grupos en cuanto a la concentración de IgA, por lo tanto la concentración de IgA no depende del tipo de parto.



## 4. CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en la presente investigación: “Determinación de IgA en leche materna en los 15 días posparto” en la Fundación Pablo Jaramillo Crespo, es posible plantear las siguientes conclusiones con respecto a las 5 madres voluntarias:

La Inmunoglobulina A presenta su máxima concentración el primer día del postparto (407,47 mg/dL), a pesar que en ese día el volumen de leche materna es escaso, si se compara con el décimo quinto día, donde el volumen de leche es mayor pero posee menor concentración de IgA (55,93 mg/dL), por lo tanto, la concentración de IgA es notoriamente mayor en los primeros días de lactancia (calostro).

Al comparar la concentración de IgA de acuerdo a los periodos de lactancia, se concluye que el descenso de la concentración aparentemente se debe al aumento del volumen de leche producido; según los resultados del análisis, entre periodos de calostro y el de transición ( $p=0,0000023$ ), leche de transición con la leche madura ( $p= 0,00037995$ ), finalmente se compara leche calostro con leche madura ( $p=0,00000029$ ).

En madres con un embarazo mayor de 38 semanas, con parto a término y en periodo de lactancia, la concentración de IgA no es influenciada por la paridad de la madre ( $p= 0.432$ ) durante los 15 días posparto.

La concentración de IgA no depende del tipo de parto, ya que según los resultados arrojados no existe una diferencia significativa ( $p= 0.842$ ) entre madres cuyo alumbramiento fue por cesárea o parto normal.



## 5. RECOMENDACIONES

La Organización Mundial de la Salud indica que los bebés deben recibir leche materna durante los 6 primeros meses de vida, como mínimo, ya que la leche materna reúne todos los requerimientos nutricionales que un recién nacido necesita para desarrollarse adecuadamente y para fortalecer su sistema inmunológico.

Considerando la importancia de la lactancia materna, es oportuno realizar las siguientes recomendaciones:

Fortalecer las prácticas de la Lactancia Materna, ya que este es el medio más idóneo para asegurar una adecuada nutrición y favorecer el normal crecimiento y desarrollo de los recién nacidos.

Dar a conocer a las madres gestantes la importancia del aporte inmunológico de la lactancia materna, fundamentalmente en la primera etapa “calostro”, a pesar que el volumen de leche sea escaso en esta etapa.

Debido a la falta de estudios anteriores de esta inmunoglobulina en la leche humana sería conveniente ampliarlos, tomando en cuenta para análisis la dieta de la madre y la etnia a la que pertenece la misma.

Para estudios posteriores se deberá tener en cuenta la hora de toma de la muestra (recolectar a la misma hora), debido a que la variación de sus componentes se observa no sólo entre mujeres, sino también en la misma madre, entre ambos senos, entre lactadas, durante una misma succión y en las distintas etapas de la lactancia. Estas variaciones no son aleatorias, sino funcionales, y están directamente relacionadas con las necesidades del niño.

Se recomendaría realizar este estudio en bancos de leche humana; ya que en ellos existe un gran número de donantes, facilitando la estandarización las muestras y su recolección.



## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Agencia pública de noticias del Ecuador y Suramérica. (09/08/2011). Los bancos de leche materna del Ecuador cuentan con un presupuesto de USD 124 mil. Extraído el 18 de mayo del 2012. Disponible en: <http://andes.info.ec/2009-2011.php/?p=82134>
2. Aguilar, M. (2005). Editor Elsevier España, 2005 ISBN 8481747688, 9788481747683N.º de páginas 664 páginas: pág. 31, 32. Extraído el 3 de julio del 2012. Disponible en : [http://books.google.com.ec/books?id=Zi6a9oXZYksC&dq=lactancia+materna&hl=es&source=gbs\\_navlinks\\_s](http://books.google.com.ec/books?id=Zi6a9oXZYksC&dq=lactancia+materna&hl=es&source=gbs_navlinks_s)
3. Alonso, C. Pallàs, R. (2009). Bancos de Leche de Madre. *Manual de Lactancia Materna*. España : Panamericana S.A., pág. 218. Extraído el 10 de mayo del 2012 de: [http://books.google.com.ec/books?id=Ulxj72VZD0C&pg=PA127&dq=definicion+leche+materna&hl=es&sa=X&ei=4TisT4\\_xE5L\\_sQKy5KW1BA&ved=0CEEQ6AEwAg#v=onepage&q=definicion%20leche%20materna&f=false](http://books.google.com.ec/books?id=Ulxj72VZD0C&pg=PA127&dq=definicion+leche+materna&hl=es&sa=X&ei=4TisT4_xE5L_sQKy5KW1BA&ved=0CEEQ6AEwAg#v=onepage&q=definicion%20leche%20materna&f=false)
4. Álvarez N. Camacho F. Otero O. Acevedo R. Valdés Y. Díaz D. Fariñas M. et al (2012). Biodistribución de IgA secretora purificada de calostro humano en fluidos biológicos de ratón Balb/c. Extraído el 12 de julio 2012. Disponible en: <http://www.finlay.sld.cu/publicaciones/vaccimonitor/Vm2012/a4.pdf>
5. Álvarez, R. Medicina General Integral. Lactancia materna. Volumen I Salud y Medicina. Capítulo 24. Bvs Cuba. Extraído el 11 enero de 2013. Disponible en: <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-000-00---0librosde--00-0-0dc.Date-0prompt-10---4-----0-1l--1-1l-50---20-about---00031-001-1-00-00&a=d&c=librosde&cl=CL3.1&d=HASHb86f10c94bd3d0c354afe1.15.3.1>
6. Araujo, E. Gonçalves, K. Da Conceição ,M. Cunha ,H. Cardoso, M. Siani, S. (2005). Evaluation of the secretory immunoglobulin A levels in the colostrum and milk of mothers of term and pre-term newborns. Extraído el 3 de marzo del 2012. Disponible en: <http://www.finlay.sld.cu/publicaciones/vaccimonitor/Vm2012/a4.pdf>



7. Béhar Moisés, Importancia de la alimentación y la nutrición en la patogenia y prevención de los procesos diarreicos; boletín de la oficina sanitaria panamericana, 1975. Pág. 334-335. Extraído el 20 de abril de 2013. Disponible en: <http://hist.library.paho.org/spanish/Bol/v78n4p334.pdf>
8. Castillo, B. Veranes, A. Rizo, R. y Cádiz, A. (2009), Lactancia Materna e inmunidad, Impacto social. s.l. : MEDISAN, 13(1), págs. 4-6. Extraído el 09 de mayo del 2012 de: [http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol13\\_1\\_09/san13109.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol13_1_09/san13109.htm)
9. García, F. Aguado, E. y Peña, J. (2003), Inmunoglobulinas. Universidad de Córdoba. Phadia. Extraído el 19 de mayo del 2012 de: Disponible en: <http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/inmunologia/tema03/etexto03.htm>
10. Gavilanes PS y cols. Inmuno protección por leche humana; Revista Mexicana Pediatría 2002; 69(3); 111-119. Extraído el 20 abril de 2013. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2002/sp023h.pdf>
11. Inmunología. Extraído el 3 de julio 2012, disponible en: <http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/2bachillerato/inmune/imagenes/dibujos/ainmunoa.jpg>
12. Juez, G.(2009). Lactancia materna: ventajas generales y nutricionales para el niño menor de un año. Chile : s.n., el gotero. Extraído el 9 de mayo del 2012. Disponible en: <http://www.elgotero.com/Archivos%20zip/Lactancia%20Materna%20Ventajas%20Generales%20y%20Nutricionales%20Para%20el%20Ni%C3%B1o%20Menor%20de%201%20A%C3%B1o.pdf>.
13. Kawano , Emori Y . American Journal of Human Biology Volumen 25, Número 3, 2013. Extraído el 20 abril de 2013. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23559469>
14. Lactancia Materna. (2005), España : MAD, S.L., 2005, Vols. ISBN: 84-665-4957-9, pág. 217. Extraído el 10 de mayo del 2012 de: [http://books.google.com.ec/books?id=SzLdl8T\\_J88C&pg=PA10&dq=definicion+leche+materna&hl=es&sa=X&ei=4TisT4\\_xE5L\\_sQKy5KW1BA&ved=0CGgQ6AEwCQ#v=onepage&q=definicion%20leche%20materna&f=false](http://books.google.com.ec/books?id=SzLdl8T_J88C&pg=PA10&dq=definicion+leche+materna&hl=es&sa=X&ei=4TisT4_xE5L_sQKy5KW1BA&ved=0CGgQ6AEwCQ#v=onepage&q=definicion%20leche%20materna&f=false)



15. Lactancia Materna. (1997). Extraído el 12 de agosto 2012. Disponible en:  
<http://www.bvs.hn/RHP/pdf/1997/pdf/Vol18-4-1997-7.pdf>
16. Lamm M. Interaction of antigens and antibodies at mucosal surfaces. *Annu Rev Microbiol* 1997; 51:311-40.
17. La Liga de la Leche. Allergies and the Breastfeeding Family. Accedida 9 de agosto del 2012. Disponible en:  
<http://embarazoyparto.about.com/od/Postparto/a/10-Beneficios-De-La-Lactancia-Materna-Para-El-Bebe.htm>.
18. Latham Michael C.; nutrición humana en el mundo en desarrollo; Ithaca, Nueva York, Estados Unidos; *Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 29*; Capítulo 7. Lactancia materna. Extraído el 15 de julio del 2012. Disponible en:  
<http://www.fao.org/docrep/006/W0073S/w0073s0b.htm> fecha de consulta
19. Leche Materna Definitiva. Extraído el 11 de julio 2012, disponible en:  
<http://www.estudioteca.net/formacion-profesional/farmacia/leche-materna-definitiva/>
20. Manual de lactancia Materna. Asociación española de pediatría. Edición-. Reimpresión. Editor: Ed. Medica Panamericana. 2008. ISBN: 8498355885. N° de páginas-. 502..
21. Monteiro RC, van de Winkel JG. IgA Fc receptors. *Annu Rev Immunol* 2003;21:177-204
22. Nascimento M. Costa J. Márquez D. Steffen V. De Souza M. (2008). IgA1 niveles en la leche y las muestras de suero de puérperas infectadas por el parásito intestinal o normal. Extraído el 10 de abril 2013. Disponible en:  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&nrm=iso&lng=pt&tlng=pt&pid=S0074-02762008000500020](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&nrm=iso&lng=pt&tlng=pt&pid=S0074-02762008000500020)
23. Pérez Laura C, Ana María Viada F, José Manuel Rojas O. 2006. extraído el 13 de abril de 2013. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rcp/v69n2/art06.pdf>
24. Ramos, F. (2005). *Matronas Del Servicio Navarro de Salud*. Editorial Mad. S.L. Primera edición, diciembre 2005. Página 212. Extraído 24 noviembre de 2012. Disponible en: [books.google.com.ec/books?isbn=8466549552](http://books.google.com.ec/books?isbn=8466549552)



25. Regueiro, J. López, C. (1997). Inmunología. Biología y Patología del Sistema Inmune (2ª Ed). Madrid, Editorial Médica Panamericana. Extraído el 12 de agosto del 2012. Disponible en <http://www.ehu.es/~oivmoral/IOtema12.html>
26. R. Clifford Blair, Richard A, Taylor. Bioestadística. Primera edición México 2008. ISBN 978-970-26-1196-7.
27. Sanz, D. (2009). Composición de la leche Materna, extraído el 03 de agosto 2012, disponible en: [http://www.unizar.es/med\\_naturista/lactancia%203/Composicion%20eche%20materna,.pdf](http://www.unizar.es/med_naturista/lactancia%203/Composicion%20eche%20materna,.pdf)
28. Strugnell, A. Wijburg, O. The role of secretory antibodies in infection immunity. Nature Reviews Microbiology 2010; 8:656-67.





## 7. ANEXOS

### Anexo N° 1. Consentimiento informado para pacientes voluntarias

La presente investigación será realizada por estudiantes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca. La meta de este estudio es la **“DETERMINACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS EN LECHE MATERNA EN LOS DÍAS POSTERIORES AL PARTO”**. **PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO:** recolectar muestras de leche materna, para su posterior análisis y obtención de datos. **RIESGOS:** La cantidad total de leche necesaria es de 2 ml y no representa ningún riesgo para la salud de madre e hijo. La toma de muestra de leche se realizará de manera adecuada y con todas las precauciones necesarias. Si usted accede a participar en este estudio, se le pedirá responder una entrevista o completar una encuesta rápida, para las fichas de recolección de leche. La participación en este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Sus respuestas al cuestionario y a la entrevista serán codificadas usando un número de identificación y por lo tanto serán anónimas. Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento durante su participación a una de las estudiantes responsables. Igualmente, puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma. Si alguna de las preguntas durante la entrevista le parecen incómodas, tiene usted el derecho de hacérselo saber al investigador o de no responderlas.

Desde ya le agradecemos su participación.

Yo, \_\_\_\_\_, acepto participar voluntariamente en esta investigación. He sido informada de que la meta de este estudio es la **“DETERMINACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS EN LECHE MATERNA EN LOS DÍAS POSTERIORES AL PARTO”**. Me han indicado también que tendré que responder cuestionarios y preguntas en una entrevista, lo cual tomará aproximadamente 10 minutos. Reconozco que la información que yo provea en el curso de esta investigación es estrictamente confidencial y no será usada para ningún otro propósito fuera de los de este estudio sin mi consentimiento. He sido informado de que puedo hacer preguntas sobre el proyecto en cualquier momento y que puedo retirarme del mismo cuando así lo decida, sin que esto acarree perjuicio alguno para mi persona. De tener preguntas sobre mi participación en este estudio, puedo contactar a Zarita Nieto, Sofía Padrón. Entiendo que una copia de esta ficha de consentimiento me será entregada, y que puedo pedir información sobre los resultados de este estudio cuando éste haya concluido. Para esto, puedo contactar a Zarita Nieto, Sofía Padrón; anteriormente mencionadas. **ACEPTACIÓN:** Su firma o huella digital indica que usted ha decidido participar voluntariamente en este estudio habiendo leído o escuchado la información anterior.

\_\_\_\_\_  
Nombre del Participante  
(Letra imprenta)

\_\_\_\_\_  
Firma del participante

\_\_\_\_\_  
ZARITA NIETO ABAD  
0302280649

\_\_\_\_\_  
SOFÍA PADRÓN QUESADA  
0104436456

Cuenca, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 2012.



**Anexo Nº 2. Formulario de registro para la recolección de los datos de las pacientes voluntarias**

FECHA: \_\_\_\_\_

CÓDIGO:

**DATOS DE IDENTIFICACION**

NOMBRE: \_\_\_\_\_

EDAD MADRE: \_\_\_\_\_

FECHA DE PARTO: \_\_\_\_\_

TIPO DE PARTO: \_\_\_\_\_

NUMERO DE HIJOS: \_\_\_\_\_

DIRECCION: \_\_\_\_\_

TELEFONO: \_\_\_\_\_

**EXAMEN FISICO**

PESO \_\_\_\_\_

TALLA \_\_\_\_\_

**ALIMENTACION**

BALANCEADA ☐

NO BALANCEADA ☐

OBSERVACION:

\_\_\_\_\_

**RESULTADOS DE LA ENTREVISTA**

Madre Apta:

SI ☐

NO ☐

Responsable de la entrevista: \_\_\_\_\_



**Anexo N° 3. Datos obtenidos por los formularios de registro de las pacientes voluntarias**

MADRE	TIPO PARTO	Nº HIJOS	DIETA	OBSERVACION
<b>I</b>	Cesárea	1	Hipercalórica, hiperproteica	Procedencia Rural. Etnia indígena.
<b>II</b>	Normal	1	Balanceada	Ninguna
<b>III</b>	Cesárea	2	Balanceada	Ninguna
<b>IV</b>	Normal	2	Balanceada	Ninguna
<b>V</b>	Normal	1	Balanceada	Ninguna

**Fuente:** Directa.

**Realizado por:** las Autoras

**Anexo 4. Lecturas de los halos obtenidos de la muestra de estudio,  
mediante técnica de inmunodifusión radial.**

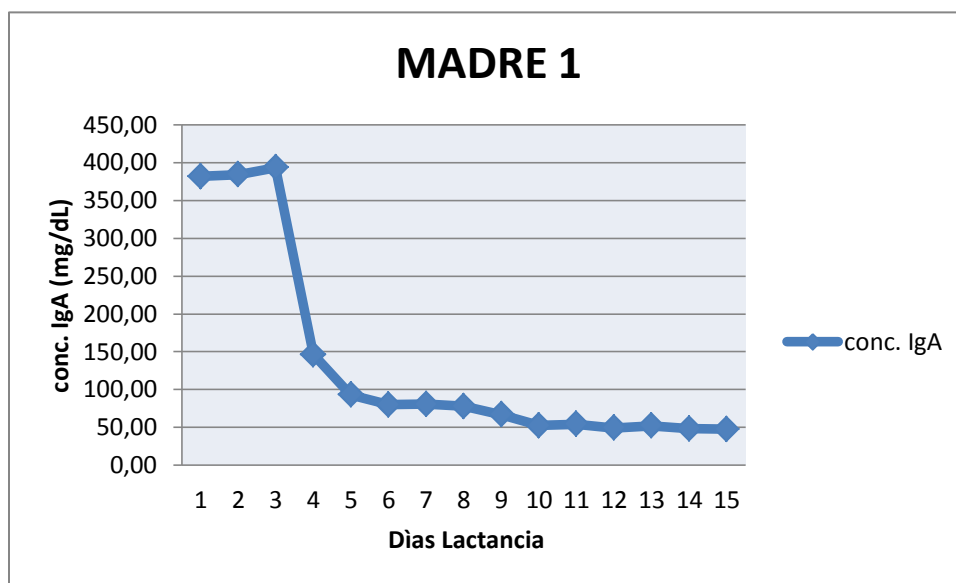
	<b>Lectura halo - Diámetro cuadrado (mm<sup>2</sup>)</b>				
<b>Día</b>	<b>madre 1</b>	<b>madre 2</b>	<b>madre 3</b>	<b>madre 4</b>	<b>madre 5</b>
1	53,59	55,05	65,12	46,66	61,94
2	53,88	37,45	31,02	23,34	45,85
3	54,9	31,47	28,31	19,62	33,88
4	27,26	22,48	21,16	22,1	26,42
5	31,7	30,69	27,89	19,62	33,42
6	28,84	25,8	29,59	18,76	38,83
7	28,94	25,8	25,5	18,5	31,58
8	28,31	26,42	22,81	17,74	31,81
9	25,9	24,2	23,22	16,97	33,65
10	28,52	29,16	29,26	16,97	33,54
11	29,15	29,15	25,6	17,06	32,73
12	27,47	29,48	25,3	16,92	35,04
13	28,42	29,37	28,63	16,97	36
14	27,16	30,03	28,94	16,97	34,92
15	26,84	30,03	28,94	16,92	33,65

**Fuente:** Directa.

**Realizado por:** las Autoras

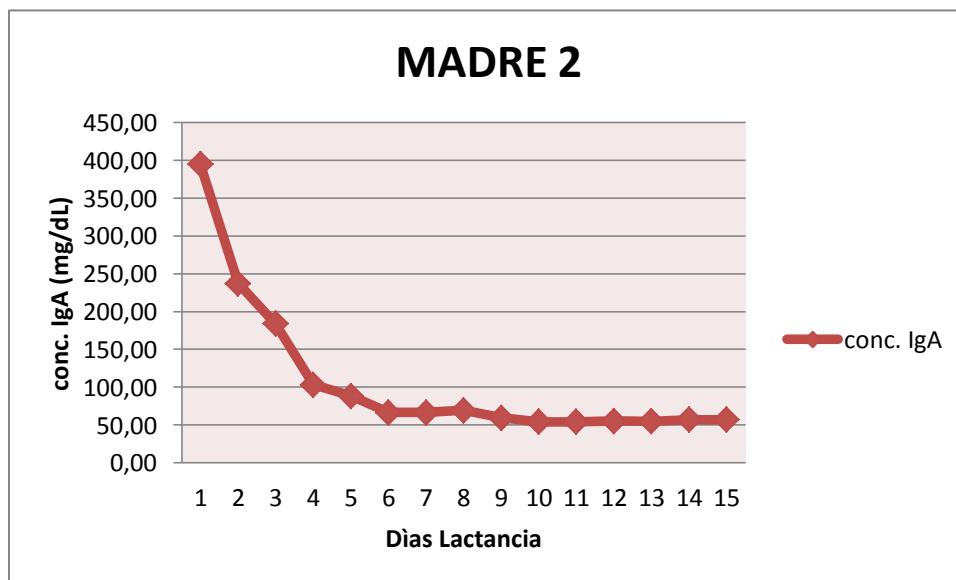
## Anexo 5. Gráficos de la concentración de IgA por Madre

**Grafico 7. Concentración de IgA en Madre I.**

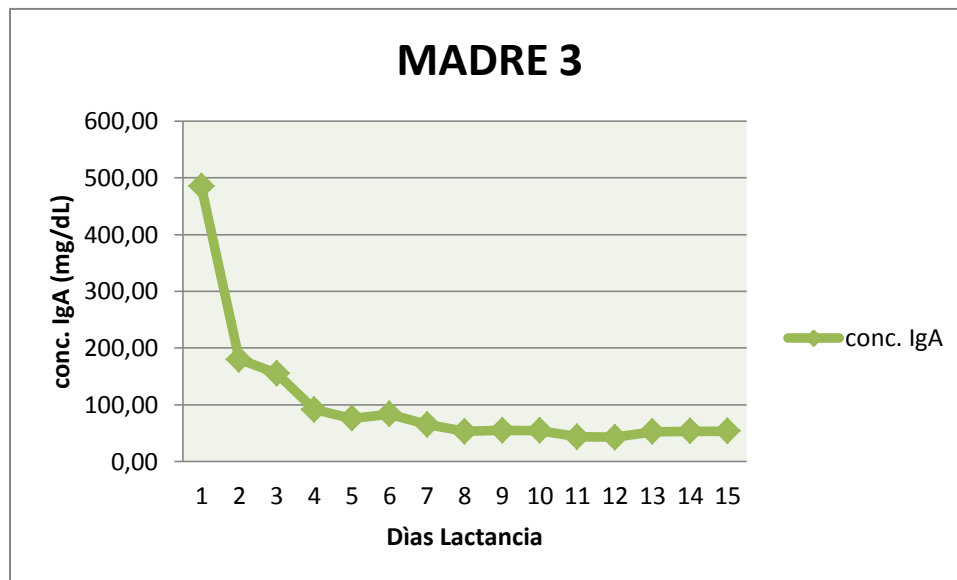


**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras

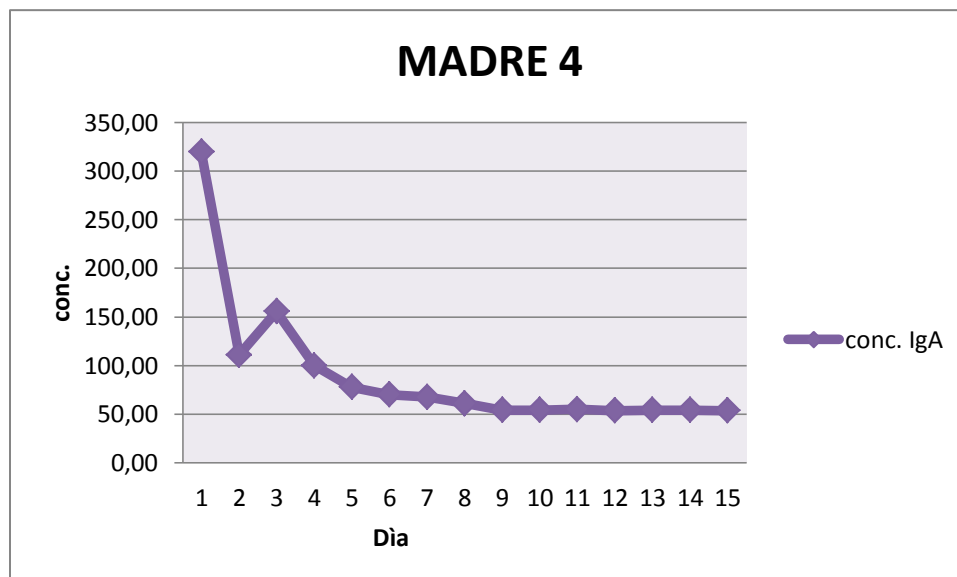
**Grafico 8. Concentración de IgA en Madre II.**



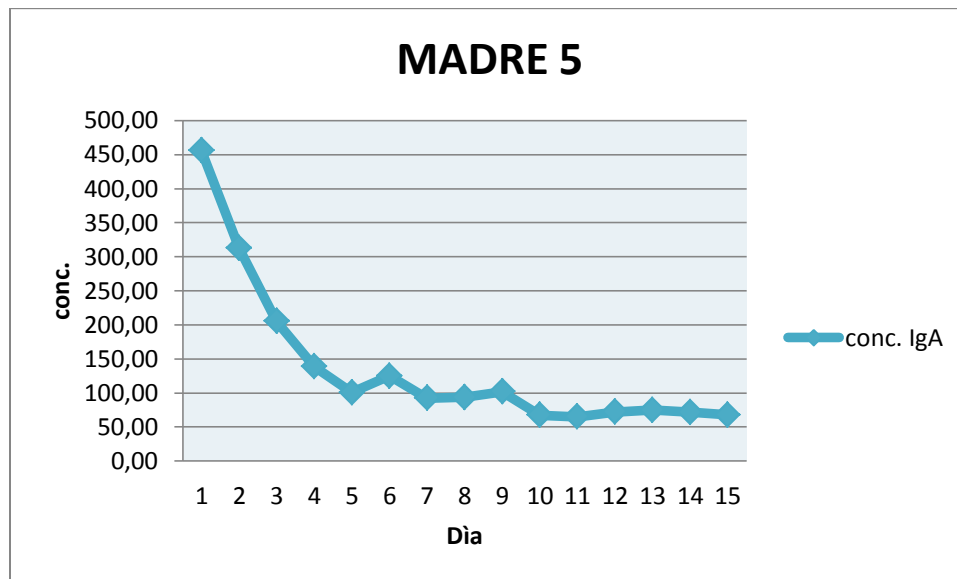
**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras

**Grafico 9. Concentración de IgA en Madre III.**

**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras

**Grafico 10. Concentración de IgA en Madre IV.**

**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras

**Grafico 11. Concentración de IgA en Madre V.**

**Fuente:** Directa.  
**Realizado por:** las Autoras

**Anexo 6. Tabla 4, valores estadísticos para diagrama de caja de la concentración de IgA por día y por madre voluntaria durante los 15 días post parto.**

PERIODO	DIA	Q1	Q2	Q3	RQI	RMIN	RMAX
<b>CALOSTRO</b>	1	381.69	394.75	456.38	74.69	269.66	568.42
	2	179.81	237.33	312.46	132.65	0.00	511.44
	3	155.69	183.84	205.39	49.70	81.14	279.94
	4	100.03	103.43	138.67	38.64	42.07	196.63
	5	77.84	88.43	92.95	15.11	55.18	115.62
<b>TRANSICION</b>	6	70.15	80.16	83.51	13.36	50.11	103.55
	7	66.56	67.83	80.60	14.04	45.50	101.66
	8	61.03	69.33	77.79	16.76	35.89	102.93
	9	55.02	59.41	67.01	11.99	37.04	85.00
	10	54.14	54.39	54.69	0.55	53.32	55.52
<b>MADURA</b>	11	54.36	54.36	54.95	0.59	53.48	55.84
	12	49.35	53.69	55.35	6.00	40.35	64.35
	13	52.81	54.14	55.02	2.21	49.50	58.34
	14	53.74	54.14	56.99	3.25	48.87	61.87
	15	53.69	53.74	56.99	3.30	48.74	61.94

**Fuente:** Directa.

**Realizado por:** las Autoras

En donde:

Min= valor mínimo

Q1= primer cuartil o percentil (0,25%).

Q2= media (50%).

Q3= tercer cuartil o percentil (0,75%).

$RQ1 = Q3 - Q1$

$Rmax = Q3 + 1.5RQ1$

$Rmin = Q1 + 1.5RQ1$





## Anexo 7. GLOSARIO

**Paridad:** estado de una mujer con respecto a los descendientes viables que le han nacido. *Nulípara:* mujer que nunca ha tenido un parto; *Primípara:* mujer que está en su primer parto, *Multípara:* mujer que ha tenido partos anteriores.

**Edad gestacional:** es el tiempo transcurrido desde el primer día de la última menstruación. Se expresa en días o semanas completas. A término: fluctúa entre la semana 37 a 41, con un promedio de 40 semanas que constituye en tiempo normal de gestación.

**Parto normal:** aquel de comienzo espontáneo desde el inicio de la labor de parto hasta la finalización con el nacimiento de un producto entre las 37 y 41 semanas de gestación.

**Cesárea:** es un tipo de parto en el cual se practica una incisión quirúrgica en el abdomen (laparotomía) y el útero de la madre para extraer uno o más fetos.

**Puerperio:** es el período que inmediatamente sigue al parto, se extiende el tiempo necesario (usualmente 6-8 semanas) o 40 días para que el cuerpo materno incluyendo las hormonas y el aparato reproductor femenino vuelvan a las condiciones pregestacionales. Puerperio inmediato (24h) y Puerperio mediato (2 semanas).

**Calostro:** es un líquido en un líquido seroso y amarillo, secretado por las glándulas mamarias durante el embarazo y los primeros días después del parto, compuesto por inmunoglobulinas, agua, proteínas, grasas y carbohidratos.

**Leche transición:** secreción mamaria que se produce entre el quinto y décimo día después del parto. Tiene un mayor contenido de grasa, lactosa y vitaminas hidrosolubles.

**Leche madura:** secreción mamaria color azulada y aguada, que se produce a partir del décimo día y a lo largo del periodo de lactancia.



## Anexo 8. Ficha técnica de inmunodifusión radial (IDR) - Biocientífica SA

**Valores de referencia para inmunoglobulinas séricas**

Edad	IgA mg/dl	IgG mg/dl	IgM mg/dl
Recién nacidos	menor de 10	700-1400	0-20
1 día-1 mes	5-30	400-1250	10-60
2 meses	8-55	230-900	13-77
3 meses	16-88	190-670	13-83
6 meses	18-80	260-880	15-92
1 mes-1 año	20-100	250-1100	16-100
2 años	22-130	350-1200	18-107
3 años	26-150	530-1220	20-108
6 años	30-240	610-1380	20-134
1-15 años	60-300	630-1400	30-148
Adultos	90-310	710-1620	40-250

Valores obtenidos en individuos presuntamente sanos de nuestra población utilizando placas y sueros controles Diffu-Plate.

**Bibliografía**

1) Berne, G.H. 1974. Clin. Chem. 200, 61-89.  
2) Fahay, J. L. and McKelvey, E. M., 1965, J. Immunol. 94-84.  
3) Heremans, J. P., and Masson, P. L., 1973, Clin. Chem. 19:294-300.  
4) Hosty, R. A., Hollenbeck, M., and Shane, S. Clin. Chem. 19:524-526.  
5) Mancini, H. S., Carbonara, A. O., Heremans, J. F., 1965, Immunochemistry 2: 235.  
6) Palmer, D. F., Woods, R. 1972. Immunology Series n°3, Dept. Of Health Education and Welfare, Publication n° (HSM)72-8102, Center for Disease Control, Atlanta, GA.  
7) Rowe, D. E., Grob, Anderson, S. 1972 WHO, 46-67.  
8) Verbruggen, R., 1975. Clin. Chem. 21: 5-43.

**Glosario de símbolos**

Fecha de vencimiento  
Lote  
Número de Catálogo  
Establecimiento Elaborador  
Contiene: n determinaciones  
Producto para Diagnóstico de uso in vitro  
Conservar entre 2 y 8 °C  
Ver instrucciones de uso

**Biocientífica SA**

Elaborado por: BIOCIENFICA S.A.  
Ruta 232, IC1427ADDI, Buenos Aires - Argentina  
Tel: 54-11-4857-5005 - Fax: 54-11-4857-1004  
Director Técnico: Héctor M. Cuervo, Bioquímico, Farmacéutico  
Producto de diagnóstico de uso in vitro autorizado por MS y AS  
Código: 3754-099

Representante autorizado: M.T. PROMED CONSULTING  
GmbH  
Altenhofstrasse 80  
D-56386 St. Ingbert  
Tel.: +49 6894 581020 - Fax: +49 6894 581021

APR-0000 6 10-08

**Biocientífica SA**

**DIFFU-PLATE**

**Placas de Inmunodifusión radial para la determinación de inmunoglobulinas y otras proteínas en líquidos biológicos.**

$\Sigma = 12$  test IVD  $+8^{\circ}\text{C}$   $+2^{\circ}\text{C}$  CE

**Instrucciones generales para el uso de las placas de inmunodifusión radial (IDR).**

**Uso del equipo**  
La IDR en placa de agarosa conteniendo antisueros específicos constituye un excelente recurso diagnóstico para la determinación cuantitativa de proteínas en líquidos biológicos dentro del rango indicado en la Tabla de Referencia. Para concentraciones fuera de este rango, las muestras a ensayar deben ser concentradas o diluidas apropiadamente (ver sección "Preparación de material").

**Presentación de los equipos**  
Placas de inmunodifusión radial para 12 determinaciones conteniendo antisuero específico para la proteína a estudiar.

**Instrucciones para la conservación**  
Las placas se conservan entre 2° y 8°C en su envase original hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta. Deben almacenarse en lugares planos e invertidas para evitar el acúmulo de agua de condensación en la superficie a sembrar. No deben congelarse.  
Una vez abiertas y si fueron parcialmente usadas, pueden reutilizarse en posteriores determinaciones, siempre y cuando sean colocadas nuevamente en el envase de aluminio, evitando el contacto con el aire, y conservadas entre 2° - 8°C. Para evitar la deshidratación del gel, colocar gasa o algodón humedecido en el centro de la placa y luego cerrar firmemente. Si pasaron más de 4 semanas desde el primer uso, se debe trazar una nueva curva de calibración ya que no corresponde usar los valores indicados en la Tabla de Referencia.

**Principio del método**  
El procedimiento consiste en una inmunoprecipitación en agarosa entre un antígeno a cuantificar, y su anticuerpo homólogo. Se realiza incorporando uno de los dos reactivos

inmunes (generalmente el anticuerpo) uniformemente en una capa de agarosa y luego introduciendo el otro reactivo en pocillos cavados en el gel. El antígeno difunde radialmente en la mezcla gel-anticuerpo y se forma un disco o anillo visible en un punto que depende de la relación estequiométrica antígeno-anticuerpo. A medida que más antígeno difunde, el anillo se reduce y reaparece a una distancia mayor del pocillo. Este aumento en el diámetro de precipitación continúa hasta que antígeno y anticuerpo reaccionan completamente. Mientras que el precipitado se está expandiendo (16 a 20 horas) la relación entre el diámetro del anillo y el logaritmo de la concentración de antígeno es aproximadamente lineal. Al completarse la reacción, la relación entre el diámetro al cuadrado y la concentración es lineal.

**El sistema Diffu-Plate permite el desarrollo de 3 métodos para el análisis de los resultados ya sea en:**

A- Determinaciones de rutina.  
B- Determinaciones de alta precisión.  
C- Determinaciones de rápida orientación.

### Equipamiento necesario para el desarrollo de la técnica

- 1- Placa IDR para 12 determinaciones.
- 2- Micropipetas o capilares que permitan medir 5 µl con precisión.
- 3- Sueros testigos con 1 y/o 3 niveles de la proteína a determinar.
- 4- Regla de lectura que permita leer con una precisión de 0.1 mm.
- 5- Tabla de conversión diámetro vs. concentración (uso opcional).

### Procedimiento

#### Preparación del material

1- Sueros controles: se pueden presentar en un único nivel de concentración o en viales de alta, media y baja concentración. Contiene azida sódica al 0.1% (evitar su ingestión y contacto con la piel o mucosas). Son estables hasta su fecha de vencimiento si se conservan entre 2° y 8°C. La concentración de proteína específica fue obtenida por comparación con estándares nacionales e internacionales. Cada calibrador tiene características físico-químicas similares a la del suero humano. Un índice de posible deterioro es la presencia de material particulado o una gran desviación de los valores esperados respecto de los valores informados en la Tabla de Referencia.

NOTA: todos los materiales usados en este equipo fueron testeados y resultaron negativos para HIV y HBsAg; sin embargo ninguno de estos ensayos garantiza la ausencia absoluta de agentes infecciosos; por lo tanto se sugiere que se manipulen en forma apropiada por personal capacitado.

2- Muestras: las muestras de suero deben procesarse en el día. En caso contrario, conservar a -20°C evitando congelar y

descongelar. Si aparece turbidez, clarificar por centrifugación. Otros materiales biológicos se centrifugan y procesan igual que el suero. Las muestras de sueros pueden necesitar ser diluidas para entrar en el rango de resolución de la placa, para ello utilizar solución fisiológica. En el caso de muestras pediátricas la concentración generalmente es menor, por lo tanto deben concentrarse las muestras al doble o bien realizar 2 siembras en un período máximo de 30 minutos. Dejar secar después de la primera siembra.

3- Placas: úselas en un área libre de polvo para evitar la contaminación.

### Desarrollo de la reacción

- 1- Abrir la placa para permitir que se evapore el exceso de humedad, si lo hubiera.
- 2- Sembrar 5 µl de muestra o control utilizando micropipetas de precisión. Colocar en el centro de la placa algodón o gasa humedecida, para mantener la humedad del agar. Cerrar firmemente la tapa.
- 3- Incubar en posición invertida en cámara húmeda el tiempo indicado en la Tabla en el punto Tiempo de Incubación, a temperatura ambiente.

### Lectura de los resultados

El punto final de la difusión está indicado por la aparición de un anillo de bordes netos. El mismo se alcanza una vez cumplido el tiempo de incubación. A partir de ese momento puede efectuarse la lectura, ya que el halo no aumentará de tamaño. El cálculo de los resultados se realiza con alguno de los siguientes métodos:

- A- Determinación de rutina utilizando tabla de valores.
- a) Medir los halos con una precisión de 0.1 mm.
  - b) Interpolar el dato anterior en la tabla de valores que acompaña a cada placa.
- B- Determinación de alta precisión trazando curva de calibración.
- a) Las tres primeras posiciones de cada placa se utilizan para sembrar las diferentes diluciones o concentraciones de los sueros controles.
  - b) Medir los diámetros de halo con una precisión de 0.1 mm.
  - c) Graficar las concentraciones de los sueros de referencia contra el diámetro al cuadrado de los halos de precipitación.
  - d) Trazar la recta que mejor una a los tres puntos.
  - e) Interpolar el valor de la muestra desconocida.
- C- Determinación de rápida orientación. Método cinético de lectura rápida.
- a) Tomar la lectura entre 16 y 20 horas de incubación con una diferencia máxima de  $\pm 30$  minutos respecto del suero de referencia. Los diámetros de las zonas de precipitación deben medirse con una precisión de 0.1 mm por lo menos.

- b) Graficar los diámetros de los sueros de referencia contra el logaritmo de sus respectivas concentraciones.
- c) Trazar la recta que mejor una a los tres puntos.
- d) Interpolar el valor de la muestra desconocida.
- e) No es necesario trazar una curva cada vez que se procesa una nueva muestra. Sin embargo, debe efectuarse la lectura en el mismo tiempo en que se leyeron los sueros de referencia. Si se efectúa una nueva siembra con más de una semana de diferencia respecto a la calibración es recomendable introducir un testigo en cada corrida.

NOTA: la tabla de valores se confecciona sobre un gran número de placas de cada lote utilizando un programa estadístico por computación para trazar la mejor recta. Sólo es válida para el número de lote indicado. Variaciones en los parámetros del ensayo, como volumen de muestras, temperatura, tiempo de incubación y utilización de la placa una vez abierta por un lapso superior a 1 mes pueden producir diámetros no concordantes con los especificados en la tabla. Es recomendable incluir sueros controles para trazar una curva de calibración.

### Errores factibles en la utilización de la técnica

- 1- Debe tenerse suma precaución al sembrar, evitando derramar muestra fuera del pocillo, romper los bordes del mismo o introducir burbujas de aire. En caso que esto ocurra, sembrar un nuevo pocillo.
- 2- Si una vez abierta la placa se observan signos de deshidratación o deterioro en el agar, debe ser desechada.
- 3- Deben evitarse las variaciones bruscas de temperatura, ya que afectan la velocidad de difusión y, por lo tanto, los diámetros de precipitación.
- 4- Las placas no deben ser congeladas. Si esto ocurriera, deben ser descartadas.

### Evaluación de los resultados

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. Los rangos que aquí se dan corresponden a pacientes ambulatorios presuntamente sanos.

<b>Inmunoglobulina G:</b>	Adultos: 600-1650 mg/dl. Niños: 560-1500 mg/dl.
<b>Inmunoglobulina A:</b>	Adultos: 90-400 mg/dl. Niños: 100-210 mg/dl.
<b>Inmunoglobulina M:</b>	Adultos: 75-300 mg/dl. Niños: 40-200 mg/dl.
<b>IgD:</b>	1-4.5 mg/dl.
<b>C-3:</b>	80-160 mg/dl.